

ISSN 1345-5974
2019-NO.64

令和元年度・第64号

研 究 報 告

Report of
Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center &
Miyazaki Prefectural Food R&D Center
FY 2019

 宮崎県工業技術センター
 宮崎県食品開発センター

目 次

工業技術センター

○報告

家畜骨由来 HAp フィラーを活用した複合材料の開発とその応用に関する研究	田頭 宗幸・下池 正彦 高橋 克嘉	1
油に分散させたマイクロ粒子の正しい粒径分布測定に欠かせないノウハウ	清水 正高	5
劣化樹脂の赤外吸収スペクトルライブラリの構築	赤木 剛・湯浅 友識 下池 正彦	9
暗視野光学系を利用した微粒子のダイナミクス of 直接観察	下池 正彦・湯浅 友識 山本 建次・清水 正高	13
金属ナノ粒子の粒子径評価に及ぼす合成条件の影響	河野 拓人・山本 建次 清水 正高	17
LED 照明の光分布制御に関する研究	肥後 一彦・鳥原 亮 山下 一男	21
IoT 利活用技術に関する研究	松清 真一・小田 誠 早水 昭二・野口 大介	27

再録

肝臓がん治療用 W/O/W エマルション型動注製剤並びに肝疾患治療を 目指した静注用 S/O/W ナノエマルション製剤の開発と臨床検討	清水 正高・西片 奈保子 東 秀史	33
太陽光発電所の雷害事例よりその調査手法と対策を考える	鳥原 亮・金丸 義男	41

食品開発センター

○報告

新品種加工用大根「悠白」の干したくあん加工適性に関する研究……………平川 良子・高橋 克嘉
松浦 靖・永山 志穂……………45

チョウザメに含まれる機能性成分含量調査……………松浦 靖・湯浅 友識
永山 志穂・古市 佳代
高橋 克嘉・平川 良子……………53

新しい加工用米（宮崎 52 号）を用いた芋焼酎試験醸造（第 2 報）……………山本 英樹・山田 和史
水谷 政美・祝園 秀樹
福良 奈津子・喜田 珠光……………59

再録

宮崎県における醤油もろみ中のヒスタミンの状況とその低減に
有効な乳酸菌スターターの選抜……………高山 清子・福良 奈津子
山本 英樹・水谷 政美
岩佐 達也・児玉 崇
吉田 秀恵……………65

Contents

Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center

OPaper

- Study on Development and the Application of Composite Material Contain HAp Filler Using Domestic Animal Bones
Toshiyuki TAGASHIRA, Masahiko SHIMOIKE and Katsuyoshi TAKAHASHI.....1
- Know-how Necessary to Correct Particle-Size Distribution Measurement of the Micro Order Particle Dispersed in Oil
Masataka SHIMIZU.....5
- Construction of Deterioration Analysis FT-IR Library for Polymeric Materials
Takeshi AKAKI, Tomonori YUASA and Masahiko SHIMOIKE.....9
- Direct Observation of Particle Behavior Using Darkfield Illumination System
Masahiko SHIMOIKE, Tomonori YUASA, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU ...13
- Effect of Synthesis Conditions on Particle Size Evaluation of Metal Nanoparticles
Takuto KAWANO, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU17
- Study on Control of Light Distribution for LED Lighting
Kazuhiko HIGO, Ryo TORIHARA and Kazuo YAMASHITA.....21
- Study on IoT Utilization Technology
Shinichi MATSUKIYO, Makoto ODA, Shoji HAYAMIZU and Daisuke NOGUCHI27

Reprints

- Development and Clinical Assessment of the W/O/W Emulsion Type Drug for Transarterial Injection Chemotherapy for Hepatocellular Carcinoma and the S/O/W Nano-emulsion Drug for the Use of Intravenous Injection Therapy of Hepatic Disease
Masataka SHIMIZU, Naoko NISHIKATA and Shushi HIGASHI33
- Consideration of Investigation Methods Learned from the Lightning Damages of Solar Power Plants
Ryo TORIHARA and Yoshio KANEMARU.....41

Miyazaki Prefectural Food Reserch and Development Center

○Paper

- Development of Processability for Dried Takuan-Zuke of Radish ‘Yuhaku’
Yoshiko HIRAKAWA, Katsuyoshi TAKAHASHI, Yasushi MATSUURA and Shiho
NAGAYAMA45
- Investigation of the Content of Functional Ingredients in Sturgeon
Yasushi MATSUURA, Tomonori YUASA, Shiho NAGAYAMA, Kayo FURUICHI, Katsuyoshi
TAKAHASHI and Yoshiko HIRAKAWA53
- The Examination Brewing of Sweet Potato *Shochu* Using New Rice for Processing, ”Miyazaki
52” (Part2)
Hideki YAMAMOTO, Kazufumi YAMADA, Masami MIZUTANI, Hideki IWAIZONO, Natsuko
FUKURA and Tamami KIDA59

Reprints

- Investigation of Soy Sauce Mash in Miyazaki Prefecture and Screening of Halophilic Lactic
Acid Bacterium Starter which is Effective for Histamine Reduction.
Kiyoko TAKAYAMA, Natsuko FUKURA, Hideki YAMAMOTO, Masami MIZUTANI,
Tatsuya IWASA, Takashi KODAMA, Hidetsugu YOSHIDA65

家畜骨由来 HAp フィラーを活用した複合材料の開発と その応用に関する研究

田頭 宗幸*1・下池 正彦*2・高橋 克嘉*3

Study on Development and the Application of Composite Material Contain HAp Filler Using Domestic Animal Bones

Toshiyuki TAGASHIRA, Masahiko SHIMOIKE and Katsuyoshi TAKAHASHI

全国有数の畜産県である当県において毎年発生する家畜骨の新規利用方法の創出を目的に、ナノサイズまで粉碎された家畜骨をフィラーとして活用した複合材料の開発とその応用について検討した。低速の卓上混練機を用いた混練では家畜骨微粒子が凝集体として樹脂中に存在していたが、高剪断加工機を用いることで、ナノオーダーで樹脂内に分散できることが確認できた。試作した複合材料は結晶化速度が向上しており、家畜骨微粒子の添加は樹脂の耐熱性向上につながるということが示唆された。さらに、複合材料が 3D プリンターのフィラメント素材として応用可能であることが分かった。

1 はじめに

全国有数の畜産県である当県においては、毎年多数の家畜が食肉処理されている。食肉処理後に残される不可食部位は畜産副産物と呼ばれ、食用以外の様々な方法で利活用されている。

畜産副産物の一つである「家畜骨」は、生体重量の約 1 割を占めるものであり、当県では毎年 1 万トン以上が排出されている。現在、この家畜骨はレンダリング施設において飼肥料に加工されて再利用されているが、安価かつ供給過多であるため家畜骨の新規需要創出が望まれている。また、近年、中国や東南アジアの国々で、口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザ、CSF(豚熱)および ASF(アフリカ豚熱)等の悪性伝染病が発生しており、日本ではこれらの国からの食肉製品の輸入を原則として禁止している。加えて、当県では畜産のブランド化等のフードビジネスに積極的に取り組んでおり、今後、有効利用が求められる畜産副産物の量は益々増加するものと見込まれる。

骨の組成は、約 70%が無機質となっており、この無機質の主成分はリン酸カルシウム系化合物の一種

であるヒドロキシアパタイト(以下、HAp とする。)である(図 1)。HAp は、生体適合性、特異的吸着性およびイオン交換能等を有し、幅広い分野での利活用が期待される機能性材料である。

当所では、家畜骨の微粒子化についての研究に取り組み、ビーズミルによるナノレベルまでの粉碎方法を報告した¹⁾。

本報では新しい家畜骨の利用方法の創出を目的として、既報によって得られたナノサイズ家畜骨微粒子をフィラーとして活用した複合材料の開発に取り組み、3D プリンターのフィラメント素材としての応用について検討したので報告する。

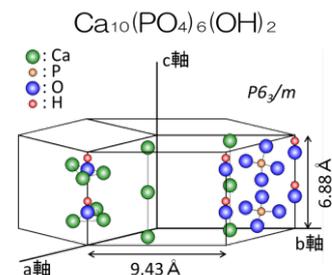


図 1 ヒドロキシアパタイト (HAp)

*1 資源環境部

*2 資源環境部 (現 材料開発部)

*3 資源環境部 (現 食品開発センター)

2 実験方法

複合材料のフィラーとして用いる家畜骨微粒子は既報の手法に準じて、予めボールミルで粉碎した骨灰（800℃焼成品）をビーズミル（アシザワ・ファインテック（株），LMZ015）で粉碎したものをを用いた。

2-1 凝集防止剤の評価

親水性の家畜骨微粒子を親油性の樹脂に安定的に分散させるためには、凝集防止剤による表面改質が必要と考えられたため、凝集防止剤の評価を行った。シランカップリング剤 11 種およびホスホン酸誘導体 1 種の各凝集防止剤を真空加温下で気化させて、蒸着させた家畜骨微粒子をヘプタンおよび水の 2 層液内に添加し、分配挙動を目視確認することで凝集防止剤の評価を行った。評価に用いた凝集防止剤を表 1 に示す。

表 1 評価に用いた凝集防止剤

シランカップリング剤	
①	3-Aminopropyltriethoxysilane
②	Octadecyltrichlorosilane
③	3-Methacryloxypropyltriethoxymethylsilane
④	Phenyltriethoxysilane
⑤	3-Glycidoxypropyltriethoxysilane
⑥	Triethoxyvinylsilane
⑦	3-Mercaptopropyltrimethoxysilane
⑧	Phenyltrichlorosilane
⑨	Hexyltriethoxysilane
⑩	Octadecyltriethoxysilane
⑪	3,3,3-Trifluoropropyltrichlorosilane
ホスホン酸誘導体	
⑫	Octadecylphosphonic acid

2-2 混練機の検討

樹脂は家畜骨と同様に原料が天然物由来となるポリ乳酸樹脂（以下、PLA とする。）を用いた。家畜骨微粒子は、PLA に対して 10 % 添加した。卓上混練機（（株）入江商会，PBV-0.3K 型）および高剪断加工機（（株）ニイガタテクノマシン，NHSS8-28）で複合材料の製作を試みた。各混練機の混練条件は表 2 のとおりである。

表 2 混練条件

	卓上混練機	高剪断加工機
回転速度	30~50rpm	1,000rpm
温度	190℃	170℃
時間	18min	20s

混練した複合材料の断面を走査電子顕微鏡（（株）日立ハイテクノロジーズ，S-4800）で観察することによりフィラーの樹脂内での分散状態を確認した。

2-3 結晶化速度の評価

PLA および高剪断加工機で試作した複合材料を 200℃の熱プレスで試料調整し、示差走査熱量計（（株）パーキンエルマー，DSC8500）を用いて半結晶化時間を測定した。測定条件を表 3 に示す。

表 3 測定条件

	温度 (°C)	Rate (°C/min)	保持時間 (min)
①	30→200	20	8.5
②	200→200	0	5
③	200→110	-200*	1
④	110→110	0	20

*降温速度200℃/minの設定になっているが実際は追従していない。

2-4 3D プリンター素材としての応用

高剪断加工機で試作した複合材料を 3D プリンターの素材に適した形状とするため押出成形機で φ1.75 mm フィラメント状に加工し、3D プリンター（武藤工業（株），MF-1100）でレンチ造形物の製作を試みた。なお、作製条件は、ノズル温度 195℃、フィラメント送り速度 100 mm/min、テーブル温度 55℃とした。

3 結果および考察

3-1 凝集防止剤の評価

凝集防止剤を蒸着させた家畜骨微粒子を 2 層液に添加した時の分配挙動を図 2 に示す。シランカップリング剤 11 種では中間層に分配しており、表面改質が不十分であることが分かった。一方、ホスホン酸誘導体ではヘプタン層への分配が確認できた。これは、シランカップリング剤と比較してホスホン酸誘導体が安定な化合物であり、また、高密度の自己組織化膜が形成される²⁾ためと考えられた。しかし、当該凝集防止剤は高価であったため実用的でなかった。今回の検討では、家畜骨微粒子を樹脂内に均一分散するのに適切な凝集防止剤を見つけるに至らなかった。



図 2 分配挙動（上層：ヘプタン，下層：水）

3-2 混練機の検討

混練機により試作した複合材料の断面のSEM画像を図3に示す。卓上混練機では、家畜骨微粒子が凝集体として混練されている様子が観察された。これは、親水性の家畜骨微粒子が樹脂中では凝集しやすく、また、最大回転数 50 rpm の卓上混練機では、家畜骨微粒子の凝集体を一次粒子に分離するほどの剪断力がないためと考えられた。そこで、高い剪断力を実現できる高剪断加工機で試作したところ、一部がナノオーダーで樹脂内に存在していることが確認できた。このことから、高剪断加工機を用いることで凝集防止剤を使わずに家畜骨微粒子をナノオーダーのまま PLA に分散できる可能性が見いだされた。

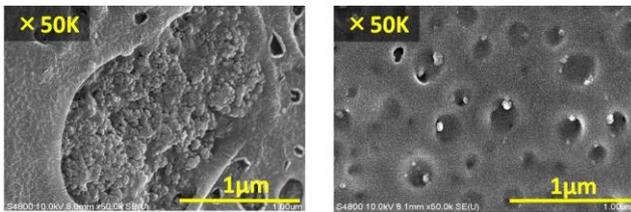


図3 SEM画像(左:卓上混練機, 右:高剪断加工機)

3-3 結晶化速度の評価

高度に結晶化させた PLA の融点は 170°C であるが、石油系の汎用樹脂に比べて結晶化速度が遅いため、一般的な成形では十分に結晶化させることは難しいと報告されている³⁾。本研究で試作した複合材料は、家畜骨微粒子が結晶化の核となり、結晶化速度が向上していることが期待できた。そこで、110°C 等温下における PLA および高剪断加工機で試作した複合材料(以下、試作体とする。)の半結晶化時間(総括結晶化熱量(J/g)の1/2となる時間)を比較することで結晶化速度を評価した。測定結果を図4に示す。

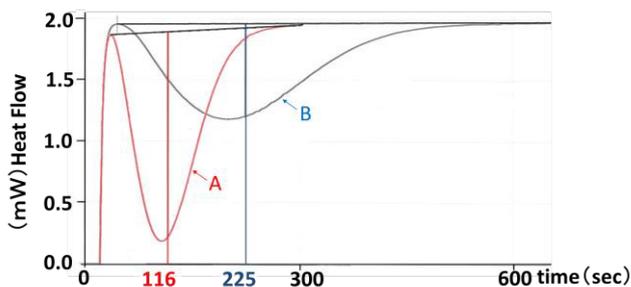


図4 半結晶化時間(A:試作体, B:PLA)

PLA では半結晶化時間が 225 sec であったが、試作体で 116 sec と短縮されており、結晶化速度が向上していることが分かった。このことから家畜骨微粒子の添加は PLA の結晶成長を有利にさせ、耐熱性の向上につながることを示唆された。

3-4 3Dプリンター素材としての応用

複合材料を 3D プリンターに活用する場合、フィラーが小さいほど微小で精巧なデザインができるため、試作体は望ましい形状と考えられた。そこで、3D プリンターの素材として応用できないか検討した。今回、母材として使用した PLA は熱可塑性樹脂であることから、熱溶解積層方式の 3D プリンターを用いることとした。押出成形機にてフィラメント化させた試作体を 3D プリンターにセットし、複雑なモデルであるレンチ造形物の試作をしたところ、プログラムどおりの精巧な造形物を作製することができた。このことから、試作体は様々なデザインへの応用が可能であることが分かった。

4 まとめ

新しい家畜骨の利用方法の創出を目的として既報の手法に準じて得られたナノサイズ家畜骨微粒子をフィラーとして活用した複合材料の開発およびその応用について検討した。その結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) 高剪断混練機を用いることで、家畜骨微粒子をナノオーダーのまま樹脂に混練できる可能性が見いだされた。
- 2) 試作体の結晶化速度評価から、家畜骨微粒子の添加により PLA の耐熱性向上が示唆された。
- 3) フィラーが微細であることから、3D プリンターの素材として応用でき、様々なデザインへの応用が可能であることが分かった。

5 参考文献

- 1) 下池正彦, 竹田智和, 落合克紀, 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, **59**, 1-4(2014)
- 2) 本柳 仁, 福本悠吾, 箕田雅彦: 繊維学会誌, Vol69 No.10, 191-197(2013)
- 3) 木村良晴: 高分子, **57**, 430-433(2008)

油に分散させたマイクロ粒子の 正しい粒径分布測定に欠かせないノウハウ

清水正高*1

Know-how Necessary to Correct Particle-Size Distribution Measurement of the Micro Order Particle Dispersed in Oil

Masataka SHIMIZU

分散系の品質評価や現象把握には正しい粒径分布測定が欠かせない。しかし、油系媒体に分散するマイクロサイズの液滴や固体粒子は、水系媒体に分散した微粒子よりも圧倒的に測定が難しい。そこで本報では、これまでの研究から導いた油系分散微粒子の正しい粒径測定を例示し、注意すべき前処理や測定手法などのノウハウを紹介する。なお、本報において、慣性力が小さなナノサイズ微粒子は、長期に分散性を確保できて測定が容易なことが多いため除外した。

1 はじめに

筆者らは、長年、膜乳化技術¹⁾を利用したエマルション製品や機能性微粒子の開発支援を行ってきており、工業相談・指導業務においてもこれら微粒子の粒径分布を評価する機会が多い。

一般に、エマルション（液液分散系）やサスペンション（固液分散系）の品質評価や特性把握には、粒径分布の正しい測定が必須である。しかし、油系媒体に分散するマイクロサイズの水滴、あるいは固体粒子（以下、総称して油系分散微粒子）は、水系媒体に分散した微粒子（水系分散微粒子）よりも圧倒的に測定が難しいことが知られている。これは油系分散微粒子が凝集しやすいことに起因しているが、実は、油系媒体による希釈の悪影響やサンプルのかくはん剪断時に生じる状態変化などについては、あまり知られていない。

本研究では、膜乳化法によって調製した単分散 W/O エマルションを粒径分布測定の標準サンプルとした。凝集性の弱い均一水滴が油系媒体に浮遊した乳化物である。これを光学顕微鏡写真の画像解析、遠心沈降・浮上式粒度分布測定装置、レーザー回折・散乱式粒度分布測定装置の3種で計

測し、その結果から正しい粒径分布の測定方法と前処理条件を明らかにした。

一方、慣性力が小さな油系分散ナノ微粒子は、粒子表面を覆う保護層が相対的に厚く、分子運動も大きくなり、凝集しないケースが多い。また、動的散乱式など測定方式も増えることから、煩雑さを避けるため本報から除外した。

2 実験方法

2-1 標準単分散 W/O エマルション

標準サンプルとなる単分散 W/O エマルションの光学顕微鏡写真を図1に示す。これは、細孔径 2.8 μm の疎水化 SPG²⁾ 膜を介し、0.9 wt% の NaCl 水溶液 (W) をポリグリセリン縮合リシノレイン酸エステル PGCR (太陽化学(株)) 2 wt% 溶解の灯油 (油系媒体 O) に向かって直接膜乳化³⁾ することにより調製した。比較的均一な大きさの水滴からなるエマルションであり、図1では若干凝集が見られるが、わずかな流動によって水滴が分散することを光学顕微鏡下で確認した。

膜乳化法では、油種や油性界面活性剤の種類・濃度を変えてもほぼ同じ水滴径の単分散 W/O エマルションを再現よく得ることができる。下記2-3に列記した油剤と油系界面活性剤のいずれを

*1 材料開発部

用いてもほぼ同じ平均水滴径を有する W/O エマルションを調製できた。しかし、標準サンプル以外は水滴が房状に凝集していた。溶質はいずれを使用しても単分散 W/O エマルション調製と凝集に影響はなかった。

なお、固体の油系分散微粒子については、適切な標準サンプルがなかったため、具体的な測定対象としなかった。

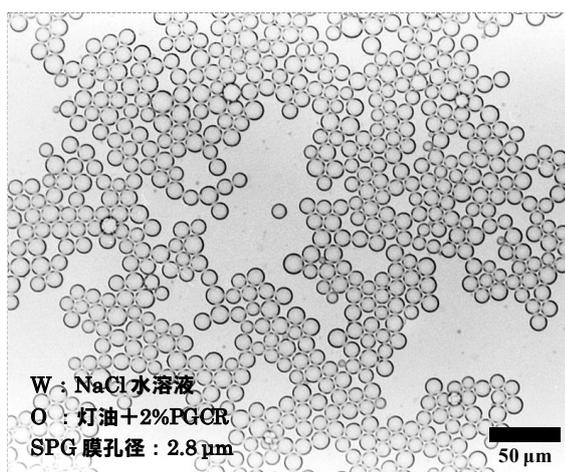


図1 標準単分散 W/O エマルションの光学顕微鏡写真

2-2 粒径分布測定方法と装置

一視野に 200 個以上の水滴が存在する標準サンプルに対して光学顕微鏡写真を 5 枚以上撮影し、恣意的な操作が加わらないように写真の画像解析を行って水滴径分布を計測した。

遠心沈降・浮上式粒度分布測定装置 ((株)堀場製作所, CAPA-500) では、サンプルを油系媒体で希釈した後に測定に供した。水滴と油系媒体の比重差を利用し、エマルションの吸光度変化から水滴径分布が求められる。

レーザー回折・散乱式粒度分布測定装置 ((株)島津製作所, SALD-2000) には、かくはん循環式のサンプラーが付属しており、これに油系媒体を満たしておき、サンプルを投入した後に測定モードへ移った。ここでは入射レーザー光の水滴群による回折あるいは散乱パターンから水滴径分布が求められる。

2-3 標準エマルションの調製と希釈に用いた油剤と油系界面活性剤

上記標準サンプルの灯油以外に、トルエン、n-ヘキサン、軽油およびオリーブ油を油剤として使

用した。油系界面活性剤としては、PGCR 以外にソルビタンモノラウレート Span20, ソルビタンモノパルミテート Span40, ソルビタンモノオレート Span80, ソルビタントリオレート Span85, ポリオキシエチレンソルビタントリオレート Tween85, テトラグリセリンエステルペンタオレート (阪本薬品工業(株), PO-310), デカグリセリンエステルデカオレート (同, DAO-750), ヘキサグリセリンエステルペンタオレート (同, PO-500), テトラグリセリンエステルモノオレート (同, MO-310) を使用した。水滴内の溶質は、NaCl の他に $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , アルギン酸 Na, ブドウ糖を用いた。以下、特別な記載がない限り、本報の原材料や試薬類は富士フイルム和光純薬(株)製である。

3 結果および考察

3-1 誤った粒径測定結果を導く一般的要因

3-1-1 DLVO 粒子間ポテンシャル(近距離)

Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek 理論⁴⁾によると、水系分散微粒子には拡散電気二重層に由来する静電的反発力と原子・分子間に生じる van der Waals 引力が作用して微粒子の分散性に寄与する。一方、油系分散微粒子では van der Waals 引力のみとなるため、本質的に凝集は避けられない。微粒子界面を界面活性剤や保護高分子で覆っても近距離凝集を防ぐことは難しい。

3-1-2 遠距離凝集⁵⁾

媒体の熱運動による微粒子の接近・衝突から起るブラウン凝集には、急速凝集と緩速凝集がある。急速凝集は、衝突した全ての微粒子が相互に付着する強力な凝集のことであり、機器による粒径分布測定は困難である。一方、緩速凝集は、衝突しても跳ね返り・離脱する微粒子が一定確率で存在する場合であり、凝集性は弱く、粒径分布の機器測定が可能な場合もある。これ以外にも、剪断速度勾配による凝集、あるいは比重差による浮上沈降などがあり、微粒子同士が接近・衝突する確率はゼロではない。容器や配管などの壁面衝突も無視できない。

3-1-3 希釈の悪影響

正しい粒径分布測定には、希釈して微粒子の数

密度を下げ、多重散乱を避ける必要がある。しかし、W/O エマルションでは水分子の油系媒体分配に由来する水滴収縮が起こりやすく、希釈油剤の種類と粘度、油性界面活性剤の種類と添加量などによって変化する。

3-1-4 剪断による崩壊・凝集

かくはんやポンプ輸送に伴う剪断により、水滴の分裂や凝集構造体の崩壊を経験することがある。逆に、微粒子の凝集が促進されることもある。

3-2 粒径分布測定法の比較

標準サンプルを上記3種の手法によって測定した結果を図2に示す。分布は比較しやすいようにヒストグラムで表した。

画像解析の水滴径分布Aは、単分散水滴が対象であるため、最も真に近いと推測される。しかし、多分散微粒子、あるいは、凝集性の強い微粒子が測定対象となる多くの状況下では、粒子の輪郭が判別できなくなるため正しい分布を求めることは難しい。恣意的に映像を撮影してしまう危険もあり、一般に、画像解析はW/O エマルションに代表される油系分散微粒子の粒径測定には適さないと考えられる。

遠心沈降・浮上式粒度分布測定装置ではサンプルを静置セルに入れて遠心を作用させる。測定時間が長く、この間に微粒子は凝集する。また、油系媒体で希釈するため、水滴の収縮やセル壁面付着などが起こる。図2Bに測定結果を示すが、単分散水滴であるにもかかわらず多分散分布になり、測定手段としては適していないと判断される。

かくはん循環式サンプラーを付属したレーザ

一回折・散乱式粒度分布測定装置の測定結果を図2Cに示す。サンプルは測定セル内を比較的高速で流動しているため、凝集の弱いサンプルであれば分散した状態で測定され、平均水滴径はAの8.2 μmに近い8.9 μmであった。分布も単分散を示し、測定手段としては最も適していると考えられる。

しかし、幾つかの問題点があることも明らかになった。同装置を使用する上で留意すべき操作条件を次項で説明する。

3-3 レーザ一回折・散乱式粒度分布測定装置操作のノウハウ

2-3に記載した油剤と油系界面活性剤の中で、サンプルの希釈に適したものを探索した。多くの種類は水滴の分散に寄与しなかったが、標準サンプル調製に採用した灯油とPGCRは希釈にも使用できることが明らかになった。ただし、水分子の油系媒体分配に由来する水滴収縮を完全に回避することはできなかった。

そこで、測定時間を短縮することにより水滴収縮を抑制する方法を試みた。図3にW/O エマルション水滴の収縮と測定時間の関係を示す。測定時間が長くするほど吸光度が低下、すなわち、水滴の体積が小さくなり、水滴径も小さくなった。そこで、サンプル投入後5秒程度の短時間で測定を終了するプログラムを設定した場合、正しい水滴径分布が測定できた。なお、ここでは油系界面活性剤を添加しなかった。

一方、図4に示す固体微粒子の粒径測定では灯油に対して0.1~0.2 wt%程度PGCRを添加した

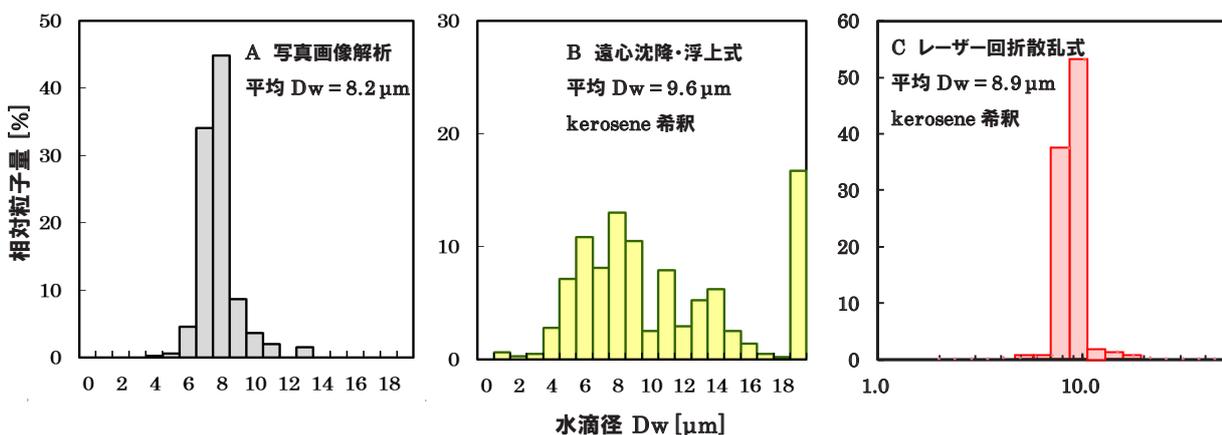


図2 標準単分散W/O エマルションを用いた粒径分布測定法の比較

場合、分散を維持することができた。それよりも高い濃度では逆に凝集を促進する傾向を示した。

4 まとめ

油系分散微粒子、特に、W/O エマルションの水粒径分布測定をミスリードする合一、凝集、収縮、分裂・崩壊、壁面付着を避け、正しく測定するためのノウハウをまとめると、以下のとおりである。

- 1) かくはん循環式サンプラーを付属し、サンプルを流動させながら測定できるレーザー回折・散乱式粒径測定装置の使用が油系分散微粒子の測定に適している。
- 2) 凝集や水滴収縮などを避けるため、測定時間はできるだけ短く設定する。
- 3) サンプルの希釈油剤には灯油が適している。
- 4) 灯油に添加する油系界面活性剤としては PGCR が適しているが、0.1~0.2 wt%の低濃度にする必要がある。添加濃度を上げた場合、逆に微粒子の凝集を促進する。一方、PGCR は水分子をトラップして水滴を収縮させる性質があるため、水滴径測定の場合には、灯油のみの使用を薦める。

5 参考文献

- 1) 清水正高, 中島忠夫, 久木崎雅人: 化学工学論文集, **28**, 3, 310-319 (2002)

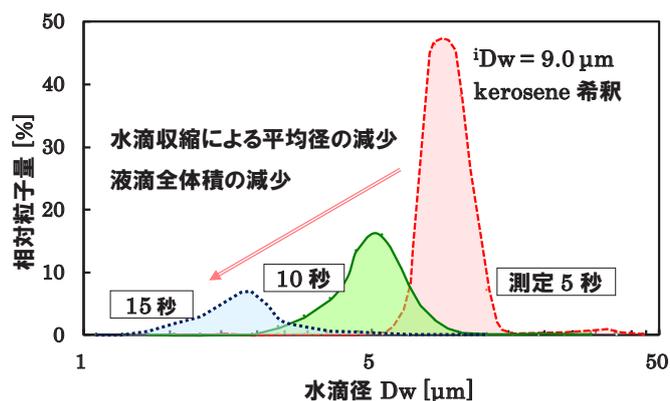


図3 測定時間と W/O エマルション水滴径の関係

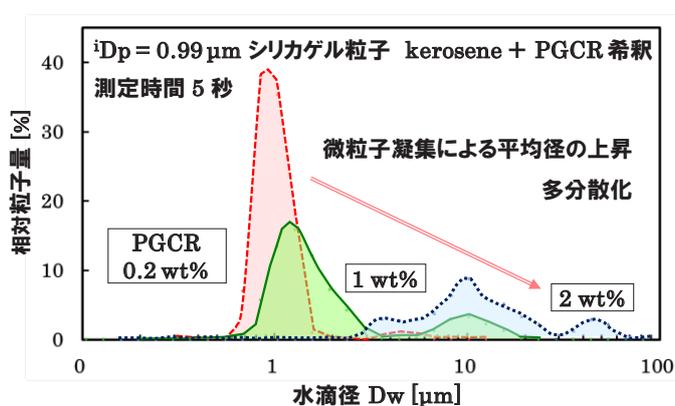


図4 固体微粒子凝集と油系界面活性剤 PGCR 濃度の関係

- 2) Nakashima T. and Shimizu M.: *J. Ceram. Soc. Japan*, **101**, 528-533 (1993)
- 3) 清水正高, 東秀史, 西片奈保子: オレオサイエンス, **19**, 5, 203-209 (2019)
- 4) 北原文雄, 古澤邦夫: 「分散・乳化系の化学」, 工学図書, 162 (1979)
- 5) 日本粉体工業技術協会編: 「凝集工学—基礎と応用」, 日刊工業新聞社, 53 (1982)

劣化樹脂の赤外吸収スペクトルライブラリの構築

赤木 剛*1・湯浅 友識*2・下池 正彦*1

Construction of Deterioration Analysis FT-IR Library for Polymeric Materials

Takeshi AKAKI, Tomonori YUASA and Masahiko SHIMOIKE

複数の樹脂を屋外暴露試験，促進劣化試験，加熱及び加熱加湿試験に供して外観の変化を観察するとともに，試料表面の赤外吸収分析から取得した赤外吸収スペクトルを整理・集約して劣化樹脂ライブラリを構築した。150℃加熱試験により調製した試料では，80℃90%RH 加熱加湿試験と比較して外観や赤外吸収スペクトルに変化が見られたものが多かった。屋外暴露試験及び促進劣化試験においては，変色等の外観変化は概ね同様の傾向を呈したが，赤外吸収スペクトルの変化は促進劣化試験の方がより顕著であった。赤外吸収スペクトル変化の有無は樹脂の種類や劣化条件で多様であったが，主な変化の要因として酸化劣化の進行が示唆された。劣化樹脂ライブラリを用いた赤外吸収分析は，劣化が疑われる異物の同定に有効な手法であり，設備利用等の企業支援における分析技術の高度化に寄与した。

1 はじめに

当センターでは，工業製品や材料に混入した異物の分析に関する相談に対応しており，所有する分析装置を用いて異物の正体を探る技術支援を行っている。特にフーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）による赤外吸収分析は，異物がプラスチック樹脂のような有機物と疑われる場合に有効な手法であり，試験依頼の頻度が高い分析のひとつである。なお，最近の分析依頼件数は，平成 28 年度から平成 30 年度までの 3 年間に，それぞれ 232 件，228 及び 196 件であり，依頼件数全体の約 4 割に相当する。

FT-IR による赤外吸収分析では，測定物質に赤外線を照射して得られる赤外吸収スペクトルを既知の標準データと比較することで，含まれる有機物の定性分析を行う。標準データは装置内のライブラリに集約されており，測定結果の検索や解析の要となるため，ライブラリデータの充実は重要である。

異物の由来として事案が多い汎用樹脂の標準データは従前からライブラリに収録されているが，同じ種類の樹脂でも例えば熱や光（紫外線）による劣化を受けると，赤外吸収スペクトルの形状が変化することが知られている¹⁾。これまで劣化樹脂のスペク

トルデータはライブラリに含まれていなかったため，外観等により劣化が疑われる樹脂から測定された赤外吸収スペクトルを，ライブラリ検索により解析することは困難であった。

そこで本研究では，屋外暴露や加熱加湿等の条件下で意図的に劣化させた樹脂の赤外吸収スペクトルを測定・収集して，劣化樹脂の標準データライブラリを構築することとした。

2 実験方法

2-1 試験に使用した樹脂の種類

劣化試験に供した試料を，表 1 に示す。市販の樹脂のシート材 12 種類及び原料ペレット 16 種類を使用した。以降の試料の表記は表 1 の略称で示す。

表 1 試験に供した樹脂試料

略称	樹脂シート	略称	樹脂ペレット
PE	ポリエチレン	PE	ポリエチレン
PP	ポリプロピレン	PP	ポリプロピレン
PA6	ポリアミド 6	PA6	ポリアミド 6
PC	ポリカーボネート	PA11	ポリアミド 11
PETG	グリコール変成ポリエチレンテレフタレート	PA12	ポリアミド 12
PBT	ポリブチレンテレフタレート	PA6,6	ポリアミド 6,6
PVC	ポリ塩化ビニル	PA6,12	ポリアミド 6,12
POM	ポリアセタール	PC	ポリカーボネート
PMMA	ポリメタクリル酸メチル	PET	ポリエチレンテレフタレート
ABS	アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体	PMMA	ポリメタクリル酸メチル
PEEK	ポリエーテルエーテルケトン	ABS	アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体
PPS	ポリフェニレンスルファイド	AS	アクリロニトリル・スチレン共重合体
		PS	ポリスチレン
		EVA	エチレン・酢酸ビニル共重合体 (酢酸ビニル含有率12%及び25%)
		PL	ポリ乳酸

*1 材料開発部

*2 材料開発部（現 食品開発センター 食品開発部）

2-2 劣化樹脂の調製

劣化樹脂の調製のために、屋外暴露試験、加熱加湿試験及び促進劣化試験を行った。

2-2-1 屋外暴露試験

各試料を当センター（宮崎市佐土原町）構内に設置した暴露試験台（図1）に据えて、屋外暴露試験を行った。試験方法はJIS K 7219に準拠し、試料の向きは真南向き、仰角は23度とした。暴露時間は3ヶ月、6ヶ月及び12ヶ月とした。試験終了後、試料を回収して速やかに真空定温乾燥器（DP32：ヤマト科学（株）製）に入れ、真空引きしながら40℃で3時間乾燥処理を行った後、赤外吸収分析に供した。



図1 屋外暴露台

2-2-2 加熱及び加熱加湿試験

各試料を市販のアルミホイル製容器に重ならないように入れ、真空定温乾燥器（DP32：ヤマト科学（株）製）に入れて加熱した。加熱温度は150℃として、加熱時間は2日、7日及び14日とした。試験終了後、試料を速やかに取り出してデシケータ内で冷却後、赤外吸収分析に供した。

また、加熱加湿試験は小型恒温恒湿器（AE-215：（株）東洋製作所製）を用いた。加熱加湿条件は80℃90%RHとし、加熱加湿時間を2日、14日、80日とした。試験終了後、試料を速やかに取り出して屋外暴露試験と同様に乾燥処理を行った後、赤外吸収分析に供した。

2-2-3 促進劣化試験

各試料を宮崎県木材利用技術センター所有の耐候性試験機（SX75：スガ試験機（株）製）に据えて紫外線照射を行い、JIS K 7350に準拠して促進劣化試験を

行った。光源にはキセノンアークランプを用いて、放射照度は60 W/m²、ブラックパネル温度38℃、湿度50%とし、120分1サイクル（102分照射と18分照射及び水噴霧）を暴露時間に応じて繰り返した。暴露時間は350時間、700時間及び1400時間とした。試験終了後、試料を速やかに取り出して屋外暴露試験と同様の乾燥処理を行った後、赤外吸収分析に供した。

2-3 赤外吸収分析

劣化試験前及び各種試験終了後の試料を対象に、FT-IR（Nicolet 6700：サーモフィッシャーサイエントフィック（株）製）を用いて赤外吸収分析を行った。分析は1回反射型ATR測定法で行い、測定条件は、分解能4 cm⁻¹、積算回数32回、測定波数領域は650 cm⁻¹から4000 cm⁻¹とした。また、測定後のデータ処理としてATR補正及びベースライン補正を行った。測定点は劣化調製した樹脂の表面とし、屋外暴露及び促進劣化試験後の試料については光（紫外線）に暴露した側の面、加熱及び加熱加湿試験後の試料については、空気に接した側の面を測定した。なお、劣化条件1水準につき3回測定を行い、同条件で調製した同種樹脂の試料間で、スペクトルデータに顕著な違いがないことを確認した上で、ライブラリデータとして採用した。

3 結果および考察

3-1 劣化試験前後の外観比較

劣化試験終了後の各試料について、外観の変化を表2に示す。各劣化条件のうち顕著な変色が見られたのは150℃加熱試験に供した試料で、PLなど一部の樹脂を除いて黄色や褐色、黒色に変色した。また、ペレットの一部は加熱により熔融した。一方、80℃90%RHで加熱加湿した試料については、PVCなど一部の樹脂を除き、概ね試験前と外観の変化は見られなかった。なお、加熱試験前のPETGシートは透明であったが、80日間の80℃90%RH加熱加湿により白化した。また、同樹脂の150℃加熱においても、表面が黄変すると同時に内部が白化した。

屋外暴露試験及び促進劣化試験においては、黄変等の変色について両試験で概ね同様の傾向が見られた。また試験期間の経過に伴う外観の変化は、概して促進劣化試験の方が早く進行した。

3-2 劣化試験前後の赤外吸収スペクトルの変化

表3に各劣化試験における赤外吸収スペクトルの変化の有無を示す。

PMMAとPLを除く樹脂において、劣化試験による赤外吸収スペクトルの変化が確認されたが、変化の有無は樹脂の種類や劣化条件の組み合わせにより異なった。劣化条件の違いで見ると、80℃90%RH加熱加湿によるスペクトル変化は、PETGやPAの一部の試料を除いては認められなかったが、150℃加熱では、試料の半数近くにスペクトル変化が見られた。屋外暴露試験及び促進劣化試験によるスペクトル変化の有無については、促進劣化試験の結果、ほとんどの樹脂でスペクトル変化が認められ、PVCやPEなど一部の樹脂では、屋外暴露試験で変化が見られなかった試料でも、促進劣化試験で変化が確認された。

スペクトル変化が認められた試料について、変化に寄与する吸収ピークの波数とその生長や減衰を各劣化条件で比較したところ、PETGなど一部の試料を除く樹脂においては、異なる劣化条件でもスペクトル変化の形は同じ傾向を示した。特に1730cm⁻¹付近のカルボニル基や3400cm⁻¹付近のヒドロキシル基の吸収ピークの発生や伸長が認められる試料が多く、光や加熱による酸化劣化の進行が示唆された。

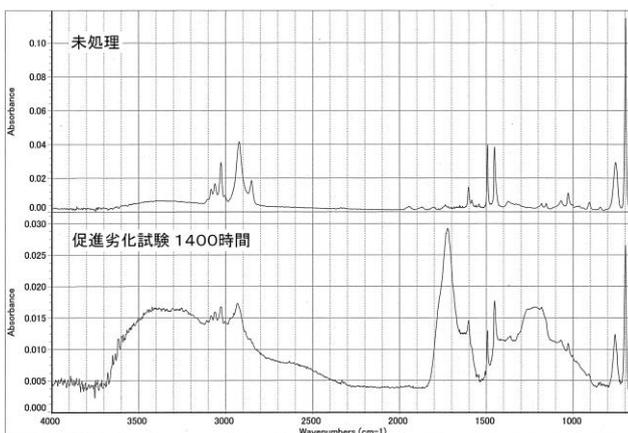


図2 赤外吸収スペクトルの変化 (PSペレット)

表2 劣化試験前後の外観の変化

シート	未処理	屋外暴露試験			150℃加熱試験			80℃90%加熱加湿試験			促進劣化試験		
		3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	2日	7日	14日	2日	14日	80日	350時間	700時間	1400時間
PE	白色	白色			黄色	茶色	褐色	白色			白色		
PP	半透明	淡黄色	薄黄色		淡黄色		薄黄色	半透明			淡黄色	薄黄色	黄色
PA6	半透明	薄黄色			薄茶色	茶色	褐色	半透明			淡黄色		薄黄色
PC	透明	透明	淡黄色		淡黄色			透明			薄黄色		黄色
PETG	透明	淡黄色	薄黄色		半透明	淡黄色	黄色	透明	白色		薄黄色		黄色
PBT	白色	淡黄色	薄黄色		白色	淡黄色	薄黄色	白色			薄黄色	黄色	茶色
PVC	透明	淡黄色	薄黄色		黄色	黒色		透明	淡黄色	薄茶色	薄黄色	薄褐色	黒色
POM	白色	白色			薄黄色		茶色	白色			白色		
PMMA	透明	透明			透明	淡黄色		透明			透明		
ABS	クリーム色	黄色			茶色	褐色	黒色	クリーム色	薄茶色		薄黄色		褐色
PEEK	灰色	黄色			灰色			灰色			黄色		褐色
PPS	灰色	褐色			薄茶色			灰色			褐色		

ペレット	未処理	屋外暴露試験			150℃加熱試験			80℃90%加熱加湿試験			促進劣化試験		
		3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	2日	7日	14日	2日	14日	80日	350時間	700時間	1400時間
PE	半透明	半透明	白色		茶色		褐色	半透明			半透明		白色
PP	半透明	白色			茶色	褐色	黒色	半透明			半透明		淡黄色
PA6	半透明	淡黄色			茶色	褐色	黒色	半透明	淡黄色		淡黄色		
PA11	半透明	半透明			褐色	黒色		淡黄色	薄黄色		半透明		
PA12	半透明	半透明	淡黄色		茶色	褐色	黒色	半透明	淡黄色		半透明		
PA6,6	半透明	半透明			茶色	褐色		半透明	淡黄色		半透明		
PA6,12	半透明	淡黄色	薄黄色		茶色	褐色	黒色	半透明	淡黄色		半透明		
PC	透明	薄黄色			透明			透明			淡黄色		薄黄色
PET	白色	淡黄色	薄黄色		白色	薄灰色	薄茶色	白色			薄黄色		
PMMA	透明	透明			透明	淡黄		透明			透明		
ABS	クリーム色	黄色			茶色	褐色	黒色	クリーム色	薄茶色		薄黄色	褐色	
AS	透明	薄黄色			淡黄色	黄色	褐色	透明			淡黄色	薄黄色	
PS	透明	薄黄色	黄色		透明	黄色		透明			淡黄色	薄黄色	
EVA	透明	透明	薄黄色		黄色	茶色	褐色	透明			透明	淡黄色	
PL	白色	白色			白色			白色			白色		

図2に、酸化劣化を示唆するスペクトル変化の一例としてPSの促進劣化試験の結果を示す。

3-3 劣化樹脂ライブラリの構築と運用

各劣化試験後に取得された赤外吸収スペクトルデータを整理・集約して、劣化樹脂ライブラリを構築した。

ライブラリデータの整理については、同型のスペクトルが重複して収録されることを極力回避するため、ほとんどの試料でスペクトル変化が見られなかった80℃90%RH加熱加湿試験について、試験期間2日及び7日の取得データを登録対象から除外した。

また、150℃加熱試験の試験期間2日及び14日の取得データでは、スペクトル変化が検出されたもののみを抜粋して登録することとした。以上の整理により、登録データ数303件の劣化樹脂ライブラリを構築した。これにより、従来対応できなかったFT-IRによる劣化樹脂の同定が可能となった。

なお、当該ライブラリについては、情報誌²⁾等による周知を経て、令和元年9月から依頼試験や設備利用等で運用を開始している。

表 3 劣化試験後の赤外吸収スペクトル変化の有無

シート	屋外暴露	加熱	加熱加湿	促進劣化	備考(主な変化) ※酸化劣化のみ掲載	ペレット	屋外暴露	加熱	加熱加湿	促進劣化	備考(主な変化) ※酸化劣化のみ掲載
PE	×	○ 2D	×	○ 700H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 1200cm ⁻¹ 付近(C-O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	PE	×	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 1200cm ⁻¹ 付近(C-O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
PP	○ 3M	×	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	PP	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
PA6	○ 3M	○ 2D	○ 2D	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑	PA6	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑
PC	○ 12M	×	×	○ 350H	1600cm ⁻¹ 付近付近(C=O, ヘンゾフェノ型)↑ 1730cm ⁻¹ 付近(C=O, カルボン酸型)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	PA11	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑
PETG	○ 6M	● 14D	● 80D	○ 350H	1700cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 1240cm ⁻¹ ・1100cm ⁻¹ 付近(C-O-C)↓	PA12	○ 6M	○ 2D	● 80D	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑
PBT	○ 6M	×	×	○ 350H	1700cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	PA6,6	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑
PVC	×	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 1620cm ⁻¹ 付近(C=C)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 690cm ⁻¹ 付近(C-Cl)↓	PA6,12	○ 12M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑
POM	×	○ 14D	×	×	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 1100cm ⁻¹ 付近(C-O-C)↓	PC	×	×	×	○ 350H	1600cm ⁻¹ 付近付近(C=O, ヘンゾフェノ型)↑ 1730cm ⁻¹ 付近(C=O, カルボン酸型)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
PMMA	×	×	×	×		PET	○ 3M	×	×	○ 350H	1700cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 1240cm ⁻¹ ・1100cm ⁻¹ 付近(C-O-C)↓
ABS	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 970cm ⁻¹ 付近(C=CH)↓	PMMA	×	×	×	×	
PEEK	○ 3M	×	×	○ 350H	1700cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	ABS	○ 3M	○ 2D	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑ 970cm ⁻¹ 付近(C=CH)↓
PPS	○ 3M	×	×	○ 350H	1700cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑	AS	○ 6M	×	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
						PS	○ 3M	×	×	○ 350H	1730cm ⁻¹ 付近(C=O)↑ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
						EVA 12%	×	×	×	○ 350H	1720cm ⁻¹ 付近(C=O, アルデヒド・ケトン)↑ 1735cm ⁻¹ 付近(C=O, アセート)↓ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
						EVA 25%	×	×	×	○ 350H	1720cm ⁻¹ 付近(C=O, アルデヒド・ケトン)↑ 1735cm ⁻¹ 付近(C=O, アセート)↓ 3400cm ⁻¹ 付近(OH)↑
						PL	×	-	-	×	

＜凡例＞ ○/●…スペクトル変化あり(○:酸化劣化、●:結晶性変化による)
 ・変化が認められた最短の試験期間を付記。
 ×…スペクトル変化なし、-…激しい損傷により測定不可
 ・備考欄の主な変化では、ピークの生長を↑、減衰を↓と記載

4 まとめ

屋外暴露試験，促進劣化試験，加熱及び加熱加湿試験に供して調製した複数の劣化樹脂を対象に赤外吸収分析を行い，収集した赤外吸収スペクトルを基に劣化樹脂ライブラリを構築した。劣化試験前後におけるスペクトル変化の有無は樹脂の種類や劣化条件により多様であったが，主な変化の要因として光や加熱による酸化劣化の進行が示唆された。劣化樹脂ライブラリの構築により劣化樹脂の同定が可能となり，赤外吸収分析の利便性が向上した。

5 謝辞

促進劣化試験において，宮崎県木材利用技術センター所有の耐候性試験機を使用させていただいた。記して謝意を表す。

6 参考文献

- 1) 古川睦久ほか:高分子の劣化・変色メカニズムとその対策および評価方法, ㈱R&D 支援センター (2014)
- 2) みやざき技術情報 No.159, 8月号:宮崎県工業技術センター, 宮崎県食品開発センター, 6 (2019)

暗視野光学系を利用した微粒子のダイナミクスの直接観察

下池 正彦*1・湯浅 友識*2・山本 建次*1・清水 正高*1

Direct Observation of Particle Behavior Using Darkfield Illumination System

Masahiko SHIMOIKE, Tomonori YUASA, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU

沸騰を伴う脱水過程を経ることによって前駆体 W/O エマルションの液滴径分布によらず油相中の分散粒子がほぼ均一なナノサイズに収束する「油中ナノ粒子分散体」の生成メカニズムを解明するための糸口を見出すため、顕微鏡電気泳動法ゼータ電位測定装置を用いて、微粒子のダイナミクスの直接観察について検討を行った。その結果、本装置は微粒子の観察のほか、減圧条件下における液体の観察に有効であることを確認し、減圧条件下における W/O エマルションの液滴を直接観察することに成功した。但し、減圧条件を与えるだけでは W/O エマルションの液滴が沸騰する現象は確認されず、生成メカニズムの解明については更なる検討が必要であると考えられた。

1 はじめに

当センターが開発した「油中ナノ粒子分散体の製造方法」（特許第 6582283 号）は、所望の水溶性物質を溶解した水溶液を用いて調製した前駆体 W/O エマルションに「沸騰を伴う脱水操作」を施すのみで、油中にナノサイズ（30~195 nm）の水溶性物質から成る分散粒子を得ることができる画期的な技術である^{1,2)}。沸騰を伴わない従来法³⁾では、前駆体の液滴径を均一な状態で可能な限り小さく、もしくは希薄な水溶液を用いなければ実現不可能であった分散粒子のナノサイズ化を、本技術は沸騰を伴う脱水条件を付与するのみで解決する。前駆体 W/O エマルションの液滴径分布によらず分散粒子がほぼ均一なナノサイズに収束する本現象のメカニズムについては未だ明らかとなっておらず、本技術の更なる発展のためにも早急な解明が望まれる。様々なアプローチ手法が考えられる中で、筆者らは液滴の脱水過程を直接観察することがメカニズム解明の大きな足がかりになると考える。しかし、W/O エマルションの液滴はマイクロサイズであるため最低でも光学顕微鏡観察が必要であり、さらに加温や減圧など沸

騰を伴う条件下で液滴の挙動を観察しなければならない点が大きな課題であった。そこで筆者らは縦置きしたガラスセル内のサンプルを観察可能な光学系を有し、微粒子の暗視野観察を行いながら電気泳動移動度を測定する顕微鏡電気泳動法ゼータ電位測定装置に着目した。本装置の光学系および専用のガラスセルを用いて観察可能な微粒子の粒子径範囲や減圧条件下における観察の可否について検討を行い、W/O エマルションの液滴の脱水過程の観察に応用可能であるか検討を行ったのでその結果を報告する。

2 実験方法

2-1 観察可能な粒子径範囲の検証

顕微鏡電気泳動法ゼータ電位測定装置（Rank Brothers Ltd, MARK II）の矩形セルを用いて蒸留水で適宜希釈したポリスチレン標準粒子（1 μm, 400 nm, 200 nm, 100 nm）の暗視野観察を行った。なお、光源はハロゲンランプを用いた。

2-2 観察に及ぼす粒子濃度の影響

1 μm のポリスチレン標準粒子（粒子濃度 = 4.6 × 10⁹ particles/mL）を蒸留水で 4 段階 10 倍希釈し、得られた粒子濃度 10⁵~10⁹ オーダーの各サンプルを用いて暗視野観察を行った。

*1 材料開発部

*2 材料開発部（現 宮崎県食品開発センター食品開発部）

2-3 蒸留水の減圧脱水過程の観察

矩形セルの電気泳動用電極差込口に真空ポンプを接続し、室温、真空度 8 hPa の条件で蒸留水（トレーサーとして 1 μm のポリスチレン標準粒子を含む）の減圧脱水を行い、その過程を暗視野観察した。観察で得られた動画像から 1 秒毎の静止画像を抽出し、ImageJ のマクロ（Color FootPrint⁴⁾）を用いて粒子の軌跡を描画した。

2-4 W/O エマルションの減圧脱水過程の観察

表 1 の条件で W/O エマルションを調製し、上記 2-3 と同一の条件で観察を行った。

表 1 W/O エマルションの調製条件

水相：1 wt%-スクロース/蒸留水
油相：5 wt%-PR-15 [※] /大豆油
水相/油相比：1/100 (w/w)
乳化：スターラーかくはん (1,600 rpm)
※ポリリシノレイン酸ヘキサグリセリル

3 結果および考察

3-1 観察可能な粒子径範囲の検証

粒子径の異なるポリスチレン標準粒子の暗視野観察像を図 1 に示す。100 nm を除いて一粒子を輝点として観察できており、200 nm の微粒子であってもその存在を確認することができた。また、粒子径が大きいほど輝点のサイズや輝度は増加し、散乱光の観察であっても定性的な粒子径の評価が可能であると考えられた。

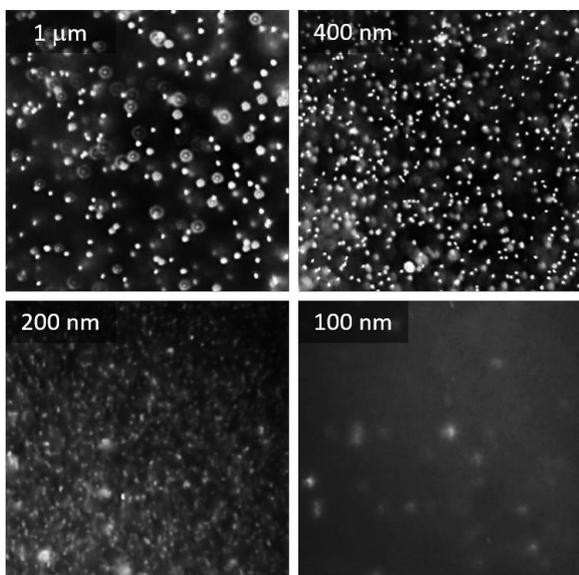


図 1 ポリスチレン標準粒子の暗視野観察像

3-2 観察に及ぼす粒子濃度の影響

希釈により粒子濃度のオーダーを $10^5 \sim 10^9$ particles/mL とした 1 μm ポリスチレン標準粒子の暗視野観察像およびサンプルの外観を図 2 に示す。標準粒子の原液 (10^9) やその 10 倍希釈 (10^8) は外観が透明感を呈さず、暗視野観察像は明るくぼやけた像となり、一粒子を識別することが困難であった。これは粒子数が過剰に多いため多重散乱が生じたものと推察された。一方、 10^7 のサンプルに関しては 1 視野あたりの粒子数が 5 つのサンプルの中では最も適切であり、これ以上の希釈を行ったサンプルに関しては 1 粒子を輝点として観察できるものの、粒子がほとんど存在しないため観察には不適であった。

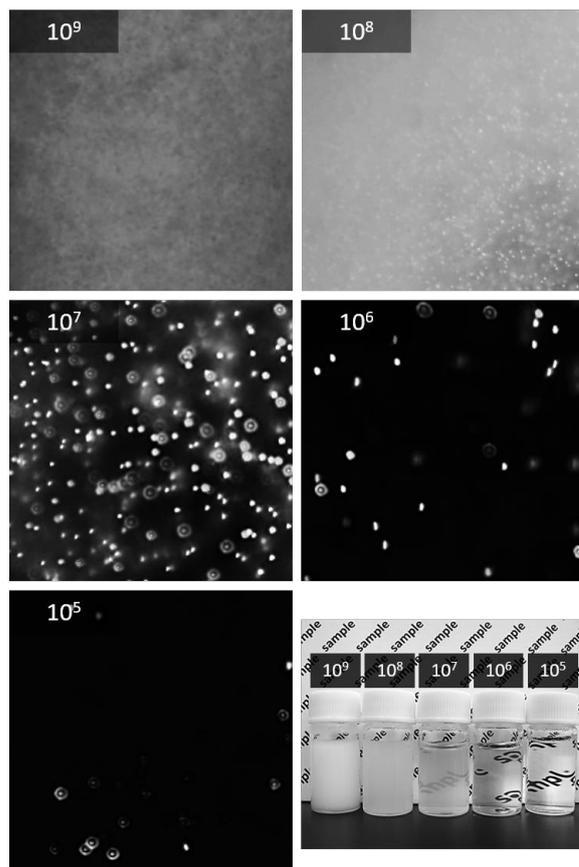


図 2 粒子濃度の異なる 1 μm ポリスチレン標準粒子の暗視野観察像およびサンプルの外観

3-3 蒸留水の減圧脱水過程の観察

1 μm のポリスチレン標準粒子をトレーサーとする蒸留水の減圧脱水過程を暗視野観察し、撮影した動画像から作成した粒子の軌跡を図 3 に示す。気液

界面近傍（図3上）において、トレーサーである標準粒子の10秒間の軌跡を描いた結果、気液界面に向かう流れに沿って粒子が上昇し、噴水状に広がっていく様子を明瞭に捉えることができた。また、本装置を用いて気液界面を観察した場合、気液界面の像が明るすぎるため、粒子由来の散乱光を捉えることが困難であった。この問題については、粒子を観察できる範囲が多少狭まるものの光源の光量を調節することで解決することができた（図3下）。なお、減圧の条件は約4℃の水の飽和蒸気圧に相当する真空度であったが、気泡の発生を伴う沸騰は生じなかった。

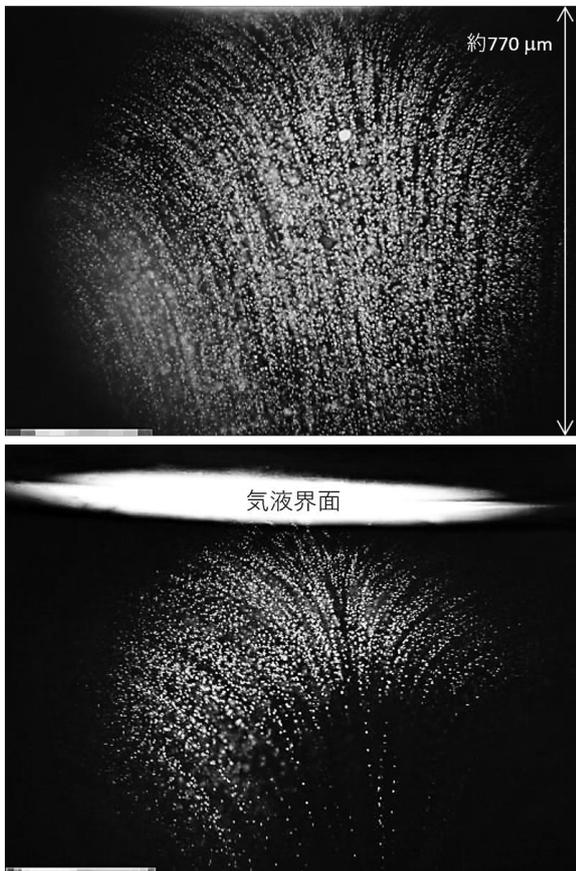


図3 蒸留水の減圧脱水過程における
1 μm ポリスチレン標準粒子の軌跡
(上) 気液界面近傍 10 sec, (下) 気液界面 20 sec

3-4 W/O エマルションの減圧脱水過程の観察

調製した W/O エマルションの外観および光学顕微鏡の明視野観察像を図4に示す。エマルションの外観は白濁しているものの、油相の比率を大きく設定し、スターラーかくはん程度の低速のせん断に留

めることにより液滴サイズ、液滴数ともに観察に適した状態となった。なお、水相の増加や一般的な乳化に用いられるホモジナイザーを用いて調製を行った場合、液滴の微細化に伴う液滴数の増大により、前記3-2の粒子濃度が高い場合と同様に暗視野観察には不適であった。

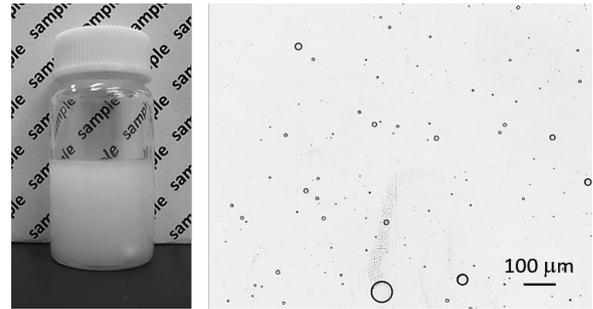


図4 調製した W/O エマルションの外観
および明視野観察像

このようにして調製した W/O エマルションの減圧脱水過程を暗視野観察した結果を図5に示す。気液界面を観察し、視野に現れた追跡が容易なサイズの液滴を20秒間観察した結果、油相中の液滴は沸騰やそれに伴う液滴の分裂を生じることなく、流れ方向に消えていった（図5上）。また、同一視野における40秒間の液滴の軌跡（図5下）からも同様の挙動であることが確認された。

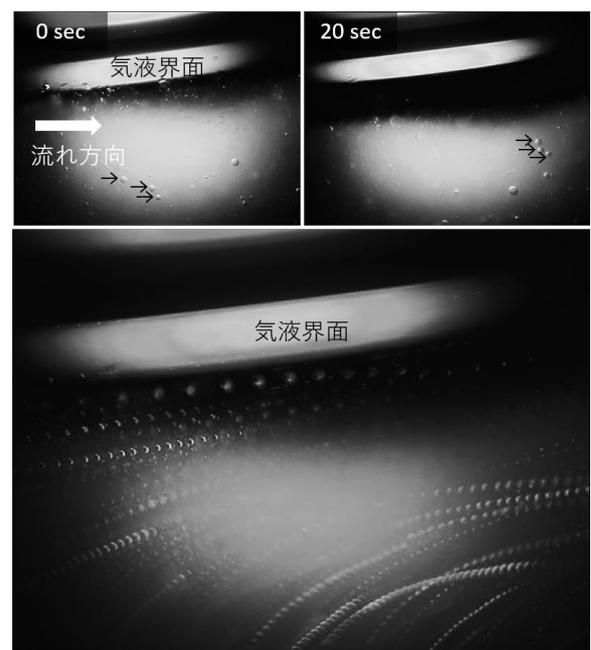


図5 W/O エマルションの減圧脱水過程の暗視野観察像
(上) 同一液滴の追跡, (下) 液滴の軌跡 40 sec

水が沸騰する温度・圧力条件下において、W/O エマルションの液滴が沸騰し、液滴の分裂・微細化が起きるのであれば、油中ナノ粒子分散体の特徴である「前駆体 W/O エマルションの液滴径分布によらず分散粒子がほぼ均一なナノサイズに収束する」という現象が説明できるのではないかと考えられたが、今回の観察においてはそのような現象は認められなかった。液体の沸騰においては、例えば鍋底の微細な凹凸に存在する微細な気泡、いわゆる気泡核の存在が不可欠であることが知られており、甲藤⁵⁾は非常に平滑なガラス管内部の水を慎重に加熱した場合、大気圧下において 300℃ 付近まで沸騰を起ささないことに言及している。油の中に水溶液の液滴が分散した W/O エマルションにおいても、不純物や溶存空気、また、ガラスセルの壁面に気泡核が存在しない限り、それぞれの液滴中に自発的に気泡核が発生するとは考えにくく、この観点に立った場合、今回の観察の結果は一応の妥当性を有するものと考えられる。

なお、補足として W/O エマルションの減圧脱水過程の経時変化をマクロな視点で観察した結果を図 6 に示す。気液界面から徐々に透明な領域が拡大し、約 20 分後には全体が透明な状態に変化した。このことは今回の実験条件が W/O エマルションから水を除去するには十分であったことを示唆するものである。

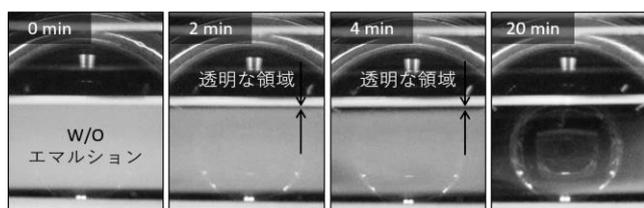


図 6 W/O エマルションの減圧脱水過程のマクロ観察

4 まとめ

油中ナノ粒子分散体の生成メカニズムの解明に向けて顕微鏡電気泳動法ゼータ電位測定装置の暗視野光学系および専用のガラスセルを用いて、微粒子のダイナミクスの直接観察について検討を行った結果、次の知見を得た。

- ①本装置は、200 nm 程度の微粒子から発せられる散乱光を捉えることが可能であり、ミクロンサイズの液滴から出発する W/O エマルションの減圧脱水過程の観察に十分であった。
- ②明瞭な暗視野観察像を得るためには、適切な粒子濃度が存在し、1 μm ポリスチレン標準粒子の場合、 10^7 particles/mL のオーダーであった。
- ③装置専用の矩形セルの電気泳動用電極差込口を真空ポンプとの接続に用いることにより、減圧条件下における液体の挙動を微粒子をトレーサーとして観察できることが分かった。
- ④W/O エマルション中の液滴は水が沸騰する温度・圧力条件下において沸騰する様子は観察されず、気泡核の存在が液滴の沸騰に不可欠である可能性が示唆された。

本研究の最終目標である油中ナノ粒子分散体の生成メカニズムの解明については、更なる検討が必要であり、例えば、気泡核となり得る沸石などを共存させた状態での液滴の観察を行い、知見を蓄積する必要がある。また、今回の実験における液体の挙動は予想以上に穏やかであり、通常の顕微鏡カメラで十分に追跡が可能であったが、沸騰を伴う激しい液体の流動を観察するにあたっては高速度カメラの使用など、観察系の改良や工夫が必要であると考えられる。

5 参考文献

- 1) 濱山真吾, 山本建次, 清水正高: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **61**, 25-27(2016)
- 2) 河野拓人, 濱山真吾, 山本建次, 落合克紀, 清水正高: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **62**, 5-8(2017)
- 3) 清水正高, 松田成信, 中島忠夫: 第 36 回 SPG フォーラム講演要旨集, 70-73(2001)
- 4) JAIST 平塚研究室, <http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/hiratsuka/index.php/ツール>
- 5) 甲藤好郎: 伝熱, **45**-191, 29-34(2006)

金属ナノ粒子の粒子径評価に及ぼす合成条件の影響

河野 拓人*¹・山本 建次*¹・清水 正高*¹

Effect of Synthesis Conditions on Particle Size Evaluation of Metal Nanoparticles

Takuto KAWANO, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU

金属ナノ粒子の粒子径評価技術は、その物性の確認や応用検討において不可欠である。本報では、金属ナノ粒子、特に本県オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子の製造方法」で製造したすずナノ粒子について、動的光散乱法による粒子径測定の可否を検討した。その結果、雰囲気条件の変更が、粒子径測定を阻害する要因となる副生成物の発生抑制に有効に寄与し、電子顕微鏡法による粒子径測定結果ともよく一致する結果が得られることが分かった。今後、様々な金属ナノ粒子の特性を理解する上で重要となる粒子径を評価する場合にも、製造時の雰囲気等の条件設定が重要となることが分かった。

1 はじめに

1-1 金属ナノ粒子について

金属ナノ粒子は、バルク状態では認められない特異的な性質（例えば、融点降下、表面プラズモン共鳴による着色、高効率な触媒活性等）を示すことが一般的に知られており、大学や企業等において盛んに研究開発が行われている。金属ナノ粒子の作製には、化学反応等によって原子や分子をクラスター化させ、目的とするサイズまで成長させて作製するビルドアップ法と呼ばれる手法が採用されることが多く、必要とする金属ナノ粒子の組成や特性に合わせて様々な製法が開発されている¹⁾²⁾。

一般的な製法のひとつに液相還元法がある。この製法は酸化還元反応を利用しており、大がかりな装置が不要なため、比較的容易に金属ナノ粒子を製造することができ、技術を使えばどこでも製造できるという利点がある。また、金属ナノ粒子が液中に分散した状態で得られるため、気相法による合成などに比べて粉塵が発生せず扱いやすいなどの利点もある。一方で、従来の液相還元法では、すず Sn などの標準電極電位が比較的低い、すなわち、還元されにくい金属のナノ粒子合成が困難であった。

そこで、本県は液相還元法に独自の配合を組み合わせる工夫を行い、オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子

の製造方法³⁾を開発した。例えば、還元されにくい Sn のナノ粒子を製造するには、金属塩である塩化すず (II) SnCl_2 と塩酸 HCl を含む水溶液に、強力な還元剤である水素化ホウ素ナトリウム NaBH_4 の水溶液を加えて反応させる必要があるが、反応時に水素の泡が発生してしまうため、これが生成粒子の凝集・合一を促進し、ナノ粒子の生成を阻害する要因となっていた。そこで本特許技術では、独自に見いだした界面活性剤とアルコールを添加する方法により、数十 nm オーダーの Sn ナノ粒子を製造することに成功した。本技術はその簡便性、汎用性から、Sn に限らず様々な金属へ応用できるポテンシャルを有し、今後も、特に還元されにくい金属への応用が期待される。

1-2 金属ナノ粒子の粒子径測定について

冒頭に記述した金属ナノ粒子の特異的な性質は、極小の粒子径による量子サイズ効果や非常に大きな比表面積によるものであり、金属ナノ粒子の特性評価には、その粒子径の評価技術が不可欠である。ナノ粒子の粒子径を評価する技術としては、電子顕微鏡を使用して粒子を直接計測する電子顕微鏡法や、レーザー光を粒子分散液に照射してその散乱光の揺らぎを観測することで粒子径を算出する動的光散乱法などの手法がある。電子顕微鏡法は粒子を直接計測できるものの、液中に分散した粒子を回収する必要がある。そのため、粒子径が数 nm オーダーと小さく重量が小さいナノ粒子は、

*1 材料開発部

遠心分離等では回収が困難となり、計測できない場合がある。一方で、動的光散乱法は粒子分散液のまま測定が可能で、粒子の回収操作が不要なため、比較的容易に粒子径を測定できる。回収が困難なナノ粒子の粒子径を測定する場合、動的光散乱法による粒子径測定は有効な手段である。

しかし、ナノ粒子の製造条件によっては、目的とするナノ粒子以外の副生成物が発生してしまい、これが粒子径測定の阻害要因となる場合があるため、動的光散乱法によって粒子径を測定する場合は、これが発生しない製造条件を検討する必要がある。

これまで、本県オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子の製造方法」によって Sn ナノ粒子を大気中で製造すると、液中に白色の析出物が発生してしまい、動的光散乱法による粒子径測定が困難になる現象が確認されていた。これは、大気中に存在する酸素が液中の Sn や未反応の Sn イオンと反応することで、酸化せずなどとして析出したためと思われる。そこで本報では、Sn ナノ粒子を製造する際の雰囲気条件を変更することで、動的光散乱法による Sn ナノ粒子の粒子径測定が可能になるか検討したので、報告する。

2 実験方法

2-1 粒子径測定用 Sn ナノ粒子の製造

本県オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子の製造方法」に記載の方法により、還元されにくい金属である Sn のナノ粒子を製造した。製造時の雰囲気条件については、①大気雰囲気、②低酸素雰囲気（グローブボックス内を窒素で置換し、酸素濃度を 0.7% まで低減）の 2 とおりで実施した。

2-2 走査型電子顕微鏡による観察および粒子径測定

2-1 により得られた粒子を、5 回の洗浄および 12100 G の遠心分離（サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社、Sorvall ST 8R）により回収した後、電界放出形走査型電子顕微鏡（株式会社日立ハイテクノロジーズ、S-4800）により粒子径を測定した。任意の粒子約 400 個を計測し、その粒子径の体積積算分布の 10% に対応する粒子径 (D_{10})、50% に対応する粒子径 (D_{50})、および 90% に対応する粒子径 (D_{90}) をそれぞれ算出した。また、参考として数積算分布についても同様に算出した。さらに、製造した粒子が Sn であることを確認

するため、②低酸素雰囲気中で製造した粒子について、同顕微鏡に付属するエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 EDS (EDAX 社、EDAX Genesis APEX2) により元素分析を実施した。

2-3 動的光散乱法による粒子径測定

2-1 により得られた粒子の液中分散液から 2 mL 採取し、純水で 20 mL まで希釈することで、液中分散液の 10 倍希釈液を調製した。当該希釈液を分析用セル（ケニス、P-2）に入れ、動的光散乱光度計（大塚電子株式会社、ELSZ-2）を使用し、25°C の条件で測定した。解析には CONTIN 法を用い、散乱強度分布の D_{10} 、 D_{50} 、および D_{90} を評価に使用した。なお、②低酸素雰囲気中で製造した粒子については、動的光散乱法による粒子径測定以外の操作をすべてグローブボックス内で行い、分析用セルは外気と触れないよう密閉して取り出した。

3 結果および考察

3-1 製造した Sn ナノ粒子分散液の外観

図 1 に、製造した Sn ナノ粒子分散液の外観を示す。①大気雰囲気中で製造した場合と異なり、②低酸素雰囲気中で製造した場合は、白色の析出物の発生は認められなかった。このことから、副生成物である白色析出物の発生は、製造時の雰囲気条件に起因するものであることが分かった。

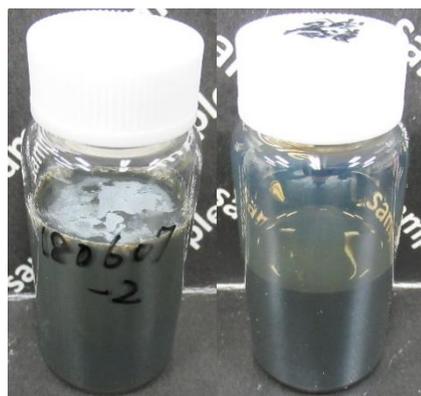


図 1 製造した Sn ナノ粒子分散液の外観
(左：①大気雰囲気、右：②低酸素雰囲気)

3-2 走査型電子顕微鏡による観察結果

電界放出形走査型電子顕微鏡による Sn ナノ粒子の観察画像を図 2、3 にそれぞれ示す。どちらの雰囲気中で製造した場合でも同様な粒子径の粒子が得られたが、①大気雰囲気中で製造した粒子は、②低酸素雰囲気中で製造した粒子よりも角張ったいびつな粒子になっている

ことが分かる。また、②低酸素雰囲気中で製造した粒子のEDSによる元素分析の結果は、Sn 94.1%、酸素O 3.4%、炭素C 2.5%であり、製造した粒子がSnであることが確認された。

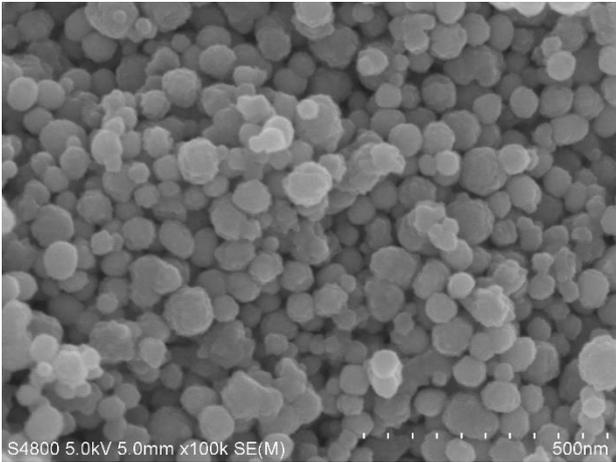


図2 ①大気雰囲気中で製造したSnナノ粒子の電子顕微鏡写真

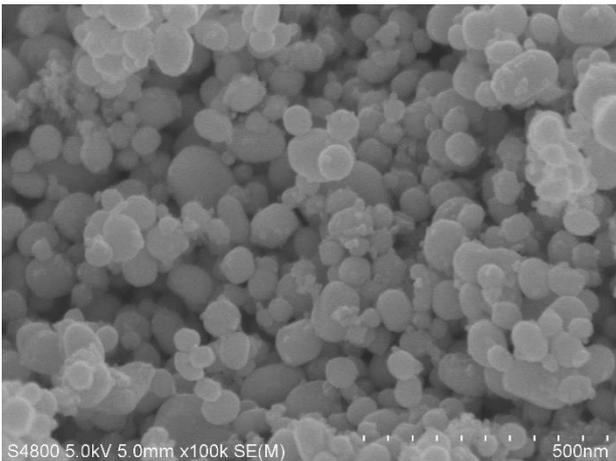


図3 ②低酸素雰囲気中で製造したSnナノ粒子の電子顕微鏡写真

3-3 粒子径測定結果

図4、5に、動的光散乱法で測定した粒子径の散乱強度分布を示す。①大気雰囲気では、120 nm 付近にピークトップがある一方で、②低酸素雰囲気では 100 nm 付近にピークトップがみられた。どちらの条件とも正規分布が得られ、当該分布以外の粒子径範囲には分布が確認されなかった。

表1、2に、①大気雰囲気および②低酸素雰囲気中で製造した場合の動的光散乱法および電子顕微鏡法による粒子径測定結果を示し、それぞれの結果を比較した。表1の①大気雰囲気では、動的光散乱法で得られた散

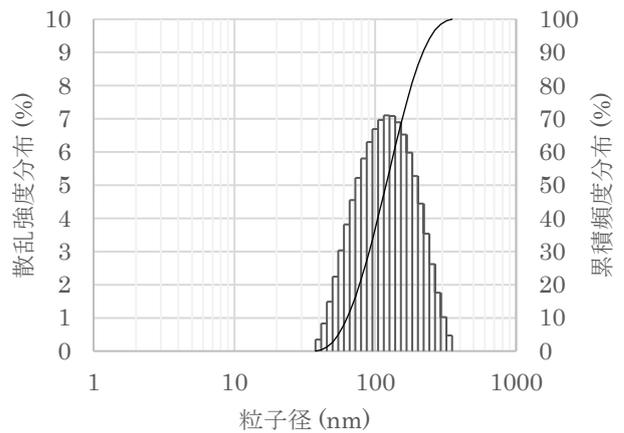


図4 動的光散乱法による散乱強度分布 (①大気雰囲気)

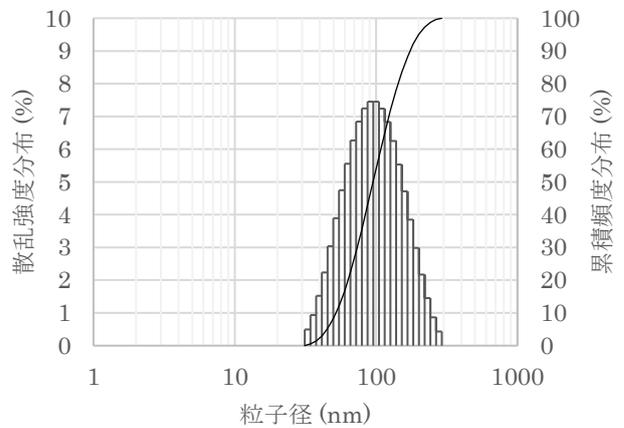


図5 動的光散乱法による散乱強度分布 (②低酸素雰囲気)

乱強度分布は電子顕微鏡法のどちらの分布とも傾向が一致していない。粒子の単分散性を表す指標として $(D_{90}-D_{10})/D_{50}$ を算出すると、動的光散乱法の散乱強度分布および電子顕微鏡法の体積頻度分布はそれぞれ 1.361 および 0.757 となり、大きく異なる値となった。

①大気雰囲気中でナノ粒子を製造した場合、大気中の酸素との反応により生成した酸化物などの介在が要因となって粒子同士が凝集し、一次粒子よりも大きな粒子として液中に分散しているものが多く含まれているためと思われる。一方、表2の②低酸素雰囲気では、動的光散乱法で得られた散乱強度分布は、電子顕微鏡法の体積頻度分布の結果と傾向がよく一致することが分かる。動的光散乱法の散乱強度分布および電子顕微鏡法の体積頻度分布の $(D_{90}-D_{10})/D_{50}$ はそれぞれ 1.223 および 1.14 となり、同様の結果となった。②低酸素雰囲気中でナノ粒子を製造した場合、①大気雰囲気と比べて酸化物などの生成が抑えられることで粒子同士の凝集を防ぐことができ、一次粒子の状態を保ったまま液中

表1 各測定法による粒子径測定結果の比較 (①大気雰囲気)

	D ₁₀ , D ₅₀ , D ₉₀ の単位 : nm			
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	(D ₉₀ -D ₁₀)/D ₅₀
動的光散乱法 散乱強度累積頻度分布 (Contin)	62.67	118.00	223.30	1.361
電子顕微鏡法 累積頻度分布 (体積基準)	51.9	70.9	105.6	0.757
【参考】電子顕微鏡法 累積頻度分布 (数基準)	43.4	59.4	81.3	0.638

表2 各測定法による粒子径測定結果の比較 (②低酸素雰囲気)

	D ₁₀ , D ₅₀ , D ₉₀ の単位 : nm			
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	(D ₉₀ -D ₁₀)/D ₅₀
動的光散乱法 散乱強度累積頻度分布 (Contin)	53.57	95.60	170.47	1.223
電子顕微鏡法 累積頻度分布 (体積基準)	52.1	81.8	145.3	1.14
【参考】電子顕微鏡法 累積頻度分布 (数基準)	39.4	57.3	87.5	0.839

に分散させることができたものと考えられる。

これらの結果から、本県オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子の製造方法」を用いて金属ナノ粒子を製造する場合、適切な雰囲気条件を選択すれば、動的光散乱法による粒子径測定が可能であり、これまで用いていた電子顕微鏡法による粒子径測定結果ともよく一致する結果が得られることが分かった。本特許技術については様々な金属への応用が期待されているが、今後応用を促進するためにも、適切な雰囲気条件を選択することが重要である。

4 まとめ

本県オリジナルの特許技術「金属ナノ粒子の製造方法」で製造した Sn ナノ粒子について、製造時の雰囲気条件を変更して副生成物の発生を抑制しながら製造することで、動的光散乱法による粒子径測定を試みた。その結果、雰囲気中の酸素濃度の低減が白色析出物の

発生抑制に効果的に寄与し、動的光散乱法による粒子径測定が可能となることが分かった。また、動的光散乱法により得られた散乱強度分布は、電子顕微鏡法で計測した粒子径分布とよく一致した結果となり、適切な雰囲気条件の選択により、電子顕微鏡法に代わるより簡便な粒子径評価手法として利用可能であることが示唆された。

5 参考文献

- 1) Brian L. Cushing, Vladimir L. Kolesnichenko, and Charles J. O'Connor, *Chem. Rev.*, **104**, 3893-3946(2004)
- 2) 友成雅則, 井田清信: 表面技術, **59-11**, 724-728(2008)
- 3) 特許「金属ナノ粒子の製造方法」(2020年6月8日登録, 特許第 6713662 号, 宮崎県)

LED 照明の光分布制御に関する研究

肥後 一彦*¹・鳥原 亮*¹・山下 一男*²

Study on Control of Light Distribution for LED Lighting

Kazuhiko HIGO ,Ryo TORIHARA ,Kazuo YAMASHITA

当センターでは LED を用いた光応用技術に関する研究を平成 24 年度から行っており、これまでに、スイートピー、ブルーベリー葉について、LED 光照射による栽培実験を実施してきた。さらに、平成 26 年度～27 年度に様々な光環境を作り出すための多波長制御光源システム（以下、多波長光源）を県内企業と共同開発し、本光源を用いて、単波長光照射による菌床シイタケの栽培実験を行ってきた。

この度、開発した多波長光源の光分布（配光）を評価するための照度分布自動測定システムを新たに構築した。また、本多波長光源の用途拡大を目的として、目視検査自動化のための照明・撮像システムを構築し、さらに、混合波長光照射による菌床シイタケの栽培実験を実施し、青色と赤色の混合光照射により、収量アップ、および全遊離アミノ酸含量アップの可能性を見出した。

1 はじめに

LED（発光ダイオード）は、他の光源に比べ消費電力が小さく、発光効率（エネルギーの可視光変換率）も高く、また、スペクトル幅の狭い単色光を得ることができる等の特長を有している。このため、照明のみならず幅広い用途で活用されており、様々な分野で研究・開発が進められている。中でも農林業の分野では、生物等の成長過程における光に対する反応がその成長に影響するとされていることから、植物やきのこ類を対象として、LED の特長を利用した新たな栽培技術開発に関する研究が広く行われている。

当センターにおいても過去にスイートピーの品質向上のための照射実験¹⁾、ならびにブルーベリー葉の機能性成分増強のための照射実験を行ってきた²⁾。さらに、様々な光環境を実現し、植物栽培等に用いる光源として、多波長光源を県内企業と共同開発し、本光源を用いて単波長光照射による菌床シイタケの栽培実験を行ってきた³⁾。

開発した多波長光源の外観を図 1、構成を図 2 に示す。(A),(B),(C)の 3 つの照明ユニットに主波長の異なる 6 種の LED が搭載されており、合計で 13

種の主波長の光を発することができる。また、それぞれの LED 群を独立して調光することができ、さらにパルス点灯やプログラム自動運転等、細かな運転が行える。これらの点灯の条件は、Android 上で動作する専用のアプリを搭載したタブレット端末により設定することで、任意の設定信号が無線でコントローラに送信される。コントローラは、この設定信号に応じた点灯制御信号を AC100V の電源電圧に重畳する役目を持っており、AC 電源コードを介して、その点灯制御信号を受け取った電源装置によって照明ユニットを設定どおりに駆動するようになっている。

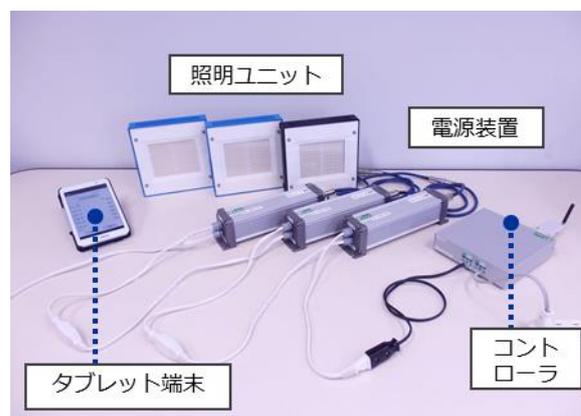


図 1 多波長光源の外観

*1 機械電子部

*2 機械電子部（現 宮崎県総務部消防保安課）

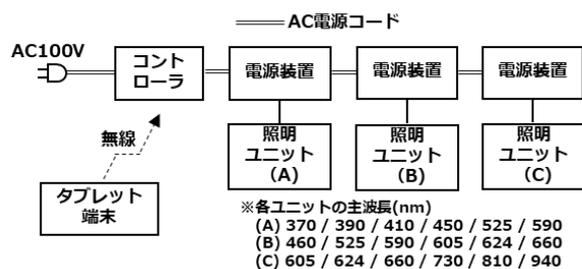


図2 多波長光源の構成

本研究においては、開発した多波長光源について、広範囲な仕様要求に応えることを目的として、植物栽培等で利用する場合に重要となってくる光分布（配光）の設計・評価技術を蓄積する。

また、多波長光源の用途拡大を図るために、目視検査自動化のための照明・撮像システムを構築し、さらに、菌床シイタケの栽培実験について、新たに混合波長による照射実験を行った。

2 方法

2-1 光分布（配光）設計ノウハウの蓄積および照度分布自動測定システムの構築

植物栽培等においては、照射対象物に光をどのように照射するか、いわゆる光分布（配光）を制御することが重要である。光分布（配光）を制御するには、まず初めに、光学解析ソフトを用いて、照度分布などを計算することにより、レンズなどの光学部品、反射板、拡散板などを適正に配置するための光学設計を行う必要がある。今回、新たに光学解析ソフト「光学 SchimulatorCad」を導入し、設計ノウハウの蓄積を図った。

一方、光学設計により光学部品などの配置を決め試作したLED光源については、所望の光分布（配光）が得られたかどうかの評価を行う必要がある。試作段階で簡易的な評価方法としては、照度分布を測定することが考えられる。これまで当センターにおいては、照度計は保有していたもののマニュアル測定であり、照度分布測定に相当な時間を要していた。

そこで、今回、照度分布を自動測定するシステムを新たに構築した。

2-1-1 照度分布自動測定システムの構築

照度分布自動測定システムを図3に、本システムの測定・制御システムを図4に示す。測定対象光源に対して、2軸自動ステージに搭載した照度計（株トプコン、IM-600）をX・Y方向に移動することによって、照度分布を得るように構成したものである。測定した照度値はデジタルマルチメータ（株エーデューシー、7352A）によってA/D変換されパソコンに送信される。また、2軸自動ステージはステージコントローラ（シグマ光機(株)、Shot-204MS）を介して、計測・制御用パソコンに接続されており、当該パソコンに搭載したExcelVBAで作成した自作プログラムにより、照度値の計測と2軸自動ステージの制御を自動で行う。

構築したシステムの確認実験として、多波長光源の照明ユニット(B)の主波長660nmのみを最大出力で点灯させ、ユニットから200mm離れた位置での照度分布を測定した。

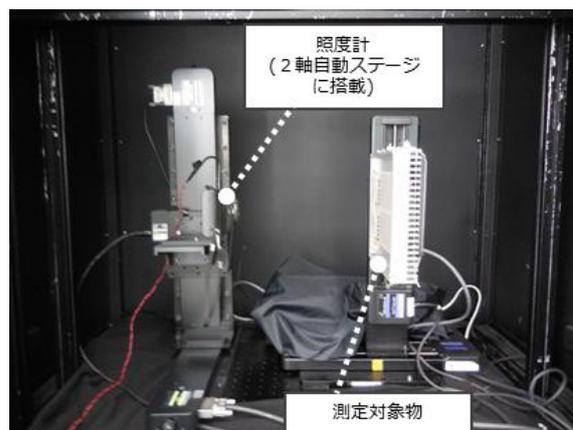


図3 照度分布自動測定システム

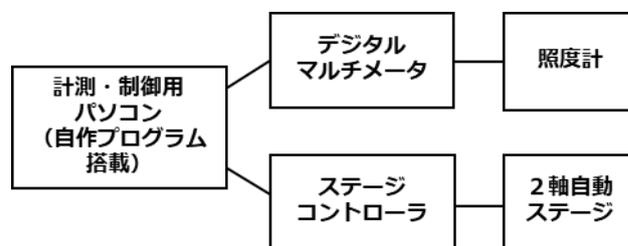


図4 照度分布自動測定システムの測定・制御システム

2-2 目視検査自動化のための照明・撮像システムの構築

昨今の人手不足により、当センターに寄せられる目視検査自動化の工業相談が増えてきている。自動化のためには、画像処理手法が必須であるが、その

前段の処理として、画像処理に最適な画像を得ることが重要である。そこで、開発した多波長光源の1つの用途として、他色サンプル撮像のための光源として応用できるのではないかと考え、新たに照明・撮像装置を構築し、多色の塗装サンプルについて、撮像実験を行うことにより、多波長光源の有効性を評価した。

2-2-1 照明・撮像システムの構築

図5に今回構築した照明・撮像装置を示す。装置は2軸ステージと回転ステージを搭載したサンプル駆動部、同じく2軸ステージと回転ステージを搭載したCCDカメラ駆動部、およびLED照明部から構成されている。LED照明部には、多波長光源に加え、市販の面発光白色LEDも搭載可能となっており、対象サンプルにより照明を変更できる。

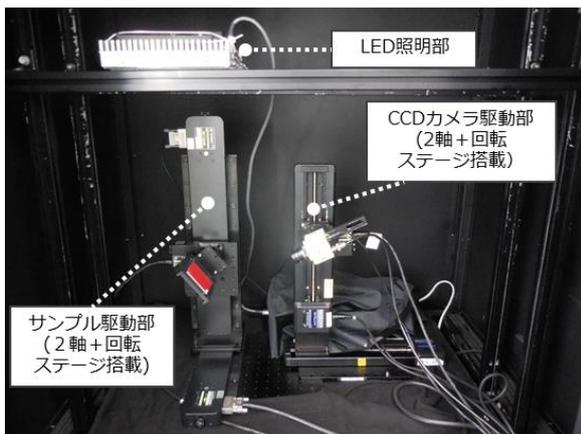


図5 照明・撮像装置

なお、サンプル駆動部およびCCDカメラ駆動部に搭載されたステージにより、サンプルに照射する光分布（配光）を自由に変更できるため、明視野照明方式（サンプルへの照射光の正反射光を観測する方式）と暗視野照明方式（サンプルへの照射光の拡散反射光を観測する方式）の両方で撮像可能とした。

2-2-2 多色塗装サンプルの撮像実験

実験サンプルとして、60mm角の亚克力平板にメタリック塗装（下地塗装、本塗装およびクリアー塗装の3層スプレー塗装膜）したものを3色（青、緑、赤）用意した。

実験方法としては、サンプル色の同色光、補色光および白色光を照射して、暗視野照明方式にて、CCDカメラで白黒画像を撮像し、サンプル作成時に付着した埃等の見え方について比較を行った。

2-3 多波長光源による菌床シイタケ栽培実験

多波長光源の用途拡大を目的として、過去に実施した菌床シイタケへの単波長光照射実験によって、青色に近い波長領域の光環境では、蛍光灯を照射した場合と同様に、傘の色が濃く柄が短くなることが判明した。一方、黄色～赤色に近い波長領域の光環境では、傘の色が淡く、柄が長くなる傾向であった。その結果から、比較的商品価値がある柄の短い子実体を得るためには、青色に近い領域の光が必須と考え、さらに、別の色の光を混ぜて照射した場合について、シイタケの栽培実験を行った。

2-3-1 実験用菌床の作成

基材（広葉樹木粉）：33%、栄養材（ふすまおよび米ぬか）：9%、水分：58%となるように調製した培地をポリプロピレン製の栽培袋に2.7kgずつ詰め、118°Cで50分間滅菌した。滅菌後一晩放冷した菌床培地の上面にシイタケ菌XR1号（榊森産業製）約12gを接種し、温度21°C、相対湿度70%に制御した環境において暗所下で102日間培養した。

2-3-2 照射条件および栽培方法

実験フィールドとする宮崎県林業技術センターの発生室の内部に、遮光シートを用いて区画を施した。各区画の光照射条件については、表1のとおりとし、青と緑を混合した光を照射する区（以下、青緑区）、青と赤を混合した光を照射する区（以下、青赤区）および対照区（蛍光灯を照射する区）を設け、24時間連続照射した。菌床は各試験区とも4個ずつ配置した。

表1 各試験区の光条件

区	照射光（主波長）と混合比率	光量子束密度 [$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$]
青緑区	青(460nm)：緑(525nm) = 3 : 1	5.7
青赤区	青(460nm)：赤(660nm) = 4 : 5	6.8
対照区 (蛍光灯)	—	5.5

初回発生後は、約30日ごとに5時間の全面浸水を繰り返し、計4回子実体を発生させた。子実体は7～8分開きを基準に収穫した。

2-3-3 子実体の収量および外観の調査

収穫した子実体は、発生個数と生重量を記録した。また、M(直径6~4 cm)およびL(直径8~6 cm)サイズの子実体を対象に、柄の長さをデジタルノギスで計測した。

さらに、土色計(コニカミノルタ株, CR-20)を用いて、傘の表面の明度、色度を計測し、L*a*b*表色系の値で表した。

2-3-4 遊離アミノ酸含量の調査

(1) シイタケの前処理

収穫されたシイタケを、直ちに冷凍保存し、各発生回数の終了後、まとめて凍結乾燥した。凍結乾燥後、高速微粉碎機で0.5mm以下に粉碎し、試験に供した。

(2) 遊離アミノ酸の測定

試料を0.02 N HClに添加し、ホモジナイズおよび超音波処理により遊離アミノ酸を抽出した。抽出液を0.45 μmのフィルターでろ過後、アミノ酸分析計(株日立製作所, L-8900 BF, 検出: ニンヒドリン発色法)により定量した。結果は、乾燥シイタケ粉末100 gあたりの重量(mg)に換算した。

3 結果および考察

3-1 照度分布自動測定システムによる照度分布測定結果

		中心からの距離(cm)										
		150	120	90	60	30	0	30	60	90	120	150
中心からの距離(cm)	150	156	176	193	207	217	220	217	210	196	176	159
	120	184	210	233	253	266	271	267	256	237	215	190
	90	213	245	274	298	318	321	318	302	278	250	219
	60	238	275	312	339	358	365	364	342	320	281	245
	30	256	296	336	368	390	402	391	370	344	304	263
	0	263	305	347	378	403	412	403	384	352	309	269
	30	258	300	339	370	393	400	390	373	343	306	264
	60	243	281	316	345	368	371	367	353	322	287	248
	90	220	252	282	307	322	329	326	308	284	256	224
	120	191	217	241	262	275	279	274	261	242	218	194
	150	162	182	201	215	225	229	224	216	202	184	164

図6 照度分布の測定結果(単位:ルクス)

多波長光源の照度分布測定結果を図6に示す。測定時間は5分程度であった。

3-2 目視検査自動化用照明・撮像システムによる多色塗装サンプルの撮像実験結果

図7に多色塗装サンプルの撮像結果を示す。図のとおり、補色光を照射した場合の方が、同色光、白色光を照射した場合に比べて、埃等の部分とそれ以外の部分とのコントラストが高いことがわかった。この結果から、多波長光源を用いた照明・撮像装置が、多色塗装サンプルの工業製品欠陥検出のために十分有用であることが確認できた。

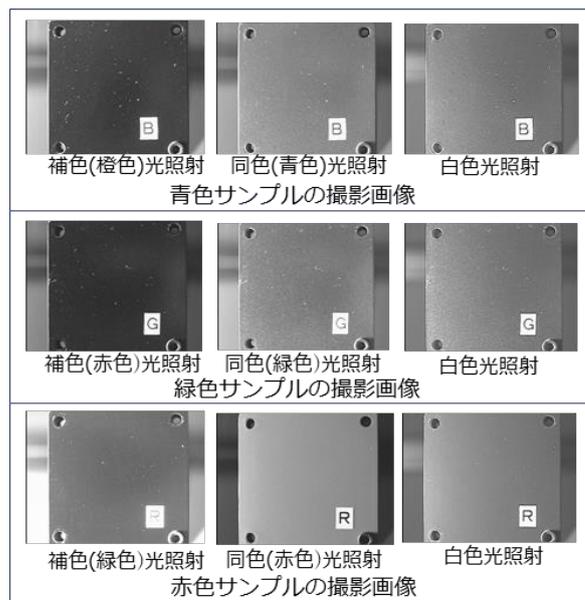


図7 サンプルの撮像結果

3-3 多波長光源による菌床シイタケ栽培実験結果

3-3-1 子実体の収量および外観に及ぼす影響

図8に光照射条件ごとの子実体生重量の測定結果を示す。蛍光灯区に比べて、青緑区、青赤区とも若干収量が多かった。

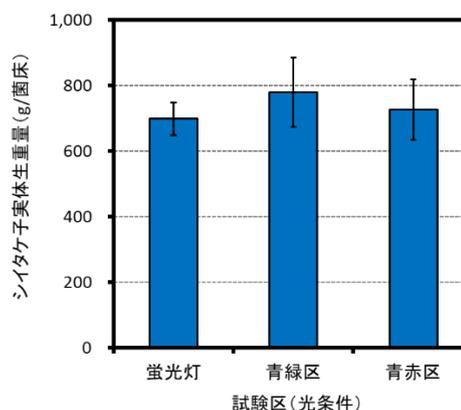


図8 光環境が子実体の生重量に及ぼす影響

図9に光照射条件ごとの子実体の柄の長さ、傘の色彩の測定結果を示した。柄の長さについては、青緑区、青赤区のいずれについても蛍光灯とほぼ同程度で、過去の実験で青の単波長光を照射した場合と同じ傾向であった。よって、青を混ぜることにより、柄の長さを短く制御できることがわかった。

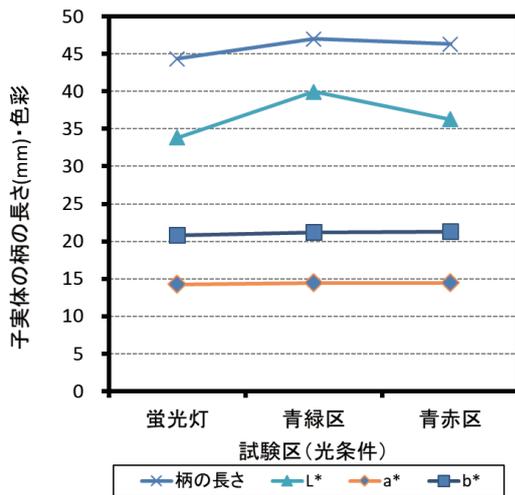


図9 光環境が柄の長さ・色彩に及ぼす影響

3-3-2 遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

図10に光照射条件ごとの全遊離アミノ酸の含量を示す。含量としては、青赤区が最も多かった。

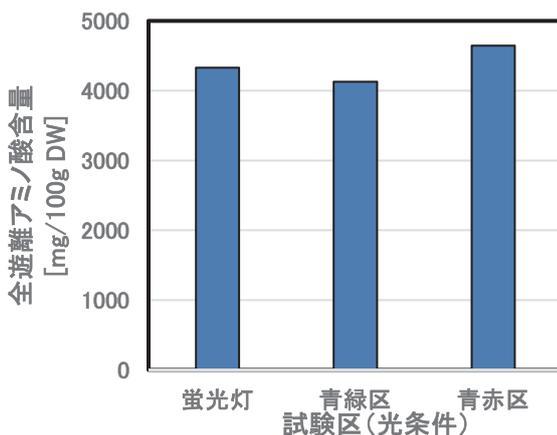


図10 光環境が全遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

4 まとめ

(1) 多波長光源について、光分布（配光）を制御するための光学設計ノウハウの蓄積、および評価装

置の構築を行った。これにより、県内照明器具関連企業への支援強化を達成できた。

(2) 多波長光源の用途拡大を目的として、昨今の人手不足を背景に需要が高まっている目視検査自動化のための照明・撮像システムの構築を行った。これにより、目視検査自動化に対する県内企業からの相談に対応できる体制が整った。

(3) 同じく多波長光源の用途拡大を目的として、菌床シイタケの栽培実験について、混合波長照射による栽培実験を実施し、青色を基本として赤色を混ぜて照射することにより、柄の長さを短く制御し、かつ、収量および全遊離アミノ酸含量が蛍光灯照射の場合より、増える可能性があることが判明した。

今後も実験方法に改善を加えながら、さらに研究を深めていく予定である。

5 謝辞

本研究の一部のうち、多波長光源の開発については、宮崎県企業局の平成26～27年度試験研究機関連携推進事業の支援を得て、吉川工業アールエフセミコン株式会社と共同で開発したものである。記して謝意を表す。

また、菌床シイタケの栽培実験については、宮崎県林業技術センターおよび宮崎県食品開発センターとの連携による共同研究で取り組んだものであり、併せて謝意を表す。

6 参考文献

- 1) 山下一男, 中岡直士, 中村薫, 鳥原亮: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 58, 13-16 (2013)
- 2) 山下一男, 松浦靖, 沼口美佐, 鳥原亮: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 59, 15-18 (2014)
- 3) 山下一男, 新田剛, 溝添暁子, 高橋克嘉, 鳥原亮: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 61, 29-32 (2016)

IoT 利活用技術に関する研究

松清 真一*¹小田 誠*³・早水 昭二*²・野口 大介*³

Study on IoT Utilization Technology

Shinichi MATSUKIYO, Makoto ODA, Shoji HAYAMIZU and Daisuke NOGUCHI

県内製造業等の現場では、少子高齢化による人材不足や働き方改革への対応が急務であるが、生産性向上のための IoT 等の新技術導入は「機器コストが負担になる」、「コスト削減や効率化の導入効果がわからない」などの理由により進んでいない。そこで、本研究では、県内中小企業の IoT 技術導入支援を行えるようにするため、デバイス（センサ）やネットワーク、クラウド等の要素技術を検討し、各種センサで取得したデータをクラウドやサーバに保存する技術の蓄積を行った。また、IoT 技術導入支援事例（県内企業との共同研究）として、①工場内生産設備の稼働率管理の IoT 化と②高級魚陸上養殖における溶存酸素管理の IoT 化に取り組んだので成果を報告する。

1 はじめに

近年、生産現場において IoT 技術を活用した設備の効率的な利用状況の把握や、生産性を向上させる取り組みが加速している。しかしながら、工場への IoT 導入は大手企業に限られているのが現状であり、中小企業での活用はほとんど進んでいない。

平成 30 年度宮崎県の産業振興に関するアンケート調査結果¹⁾によると、IoT・AI など新技術導入の課題として「導入費用」、「メリット（必要性）がわからない」の回答が多いことから、県内中小企業には、IoT 導入の費用対効果や活用効果に関わる情報が行き届いていないことがわかる。また、IoT 機器を扱うことのできる人材が不足していることも要因ではないかと推察される。今後、これら新技術について、当センターへの相談が増えることが予想されるため、IoT 技術を蓄積しておくことが重要である。

そこで、本研究では、IoT システム構築方法、各種センサからのデータ取得方法、ならびにクラウド等へのデータ保存方法について研究を行った。その結果、2 件の IoT 技術導入支援を行うことができたので、成果を報告する。

2 研究方法

IoT を構成する要素には、「デバイス（センサ）」、「ネットワーク」、「クラウド」、「アプリケーション」がある。センサや通信機器が搭載された IoT デバイスでデータを取得し、ネットワークを介してクラウドやサーバにデータを保存する。保存されたデータはアプリケーションで可視化される。可視化されたデータを元に、モータ等の機器制御やスマートフォン等との連携を行う（図 1）。

本研究では、次の 4 つの要素技術（表 1）の蓄積に取り組み、IoT システムの構築方法を検討した。

2-1 デバイス

デバイスには、センサデバイス（温度、湿度、振動、加速度等のセンサが搭載されている）や、データ分析の結果を受けてアクチュエータを駆動する制御デバイス（DC モータ、ステッピングモータ等が搭載されている）がある。センサデバイスは、センサ素子とマイコン（CPU）が接続されたものである。また、制御デバイスは、アクチュエータとマイコンが接続されたものである。本研究では、センサデバイスや制御デバイスを構築するために、シングルボードコンピュータを利用した。

シングルボードコンピュータは 1 つの基板上に CPU や通信モジュールなどが搭載されたものであり、本研究では、代表的なシングルボードコンピュ

*1 機械電子部（現 宮崎県企業局工務課）

*2 機械電子部（現 宮崎県企業局施設管理課）

*3 機械電子部

ータである，Raspberry Pi と Arduino を用いた IoT システムの構築方法を検討した。

2-2 ネットワーク

ネットワークには，Wi-Fi，3G / 4G(LTE)，5G，LPWA，Bluetooth，NFC など，様々な種類がある。

無線通信技術は，通信距離や周波数帯によって分類することができる。周波数帯が広いと一度に多くのデータを転送できる（通信速度が速い）が，消費電力は大きくなり，通信距離も短くなる。一方，周波数帯が狭いと転送できるデータ量が小さくなる（通信速度が遅い）が，消費電力は小さく，通信距離は長くなる。本研究では，目的に応じて適切な周波数帯の通信を選定した。

2-3 クラウド

各種センサにより取得したデータを，サーバやクラウド上に保存した。クラウドには，「データの保存（ストレージ）」と「可視化，分析予測，制御」がある。

代表的なクラウドサービスとして，Azure，GCP（Google Cloud Platform），AWS（Amazon Web Service）がある。本研究では，GCP を利用した。

2-4 アプリケーション

クラウドへのデータの保存やクラウドに蓄積したデータの可視化・分析，予測等を行うもので，Python 等のプログラム言語で作成する方法を検討した。

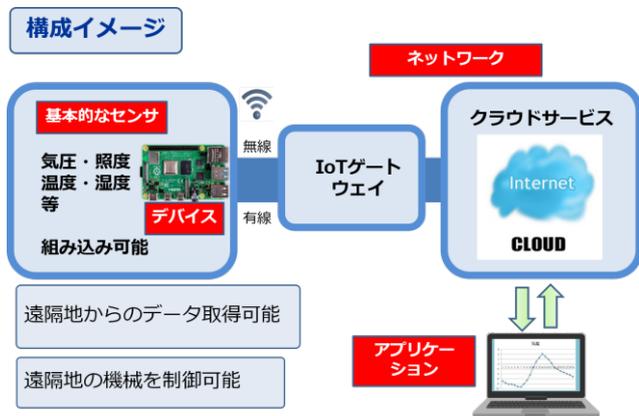


図1 IoTシステムのイメージ

表1 IoTシステムの構成要素

構成要素	内容
デバイス	各種センサと Raspberry Pi や Arduino 等のシングルボードコンピュータが接続されたもの
IoT ゲートウェイ ネットワーク	Wi-Fi などの無線通信により各種センサからのデータを検出し，サーバ、クラウドに送信
クラウドサービス	ネットワークからのデータを蓄積および保存
アプリケーション	IoT 機器の制御およびセンサで取得したデータの可視化等を行うもの（Python 等プログラム言語で作成）

3 結果および考察

3-1 IoTシステムの構築

前述の要素技術を活用して，様々なタイプの IoT システムを構築した。ここでは，一例として温度センサの情報をブラウザから読み取るシステムの構築方法を記す²⁾（図2）。

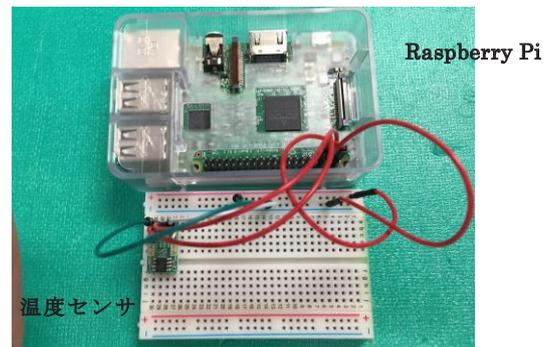


図2 試作したIoTシステム

- (1) マイコンボード（Raspberry Pi）に I2C 接続対応の温度センサ（ADT7410）を接続する。Raspberry Pi と ADT7410 の SDA と SCL を接続する。加えて 3.3V ピンと VDD とを接続し，さらに GND 同士を接続する。
- (2) Raspberry Pi で I2C 用モジュールを有効にする設定を行う。これにより，温度センサの出力を Raspberry Pi で読むことができる。

- (3) 回路を動かすプログラムを Python で作成する。Python Shell に 1 秒おきに温度が表示されるようにした。
- (4) Raspberry Pi と PC をアプリケーションを使って連携できるようにする。アプリケーションには、WebIOPi を使用した。
- WebIOPi は、ブラウザを介して Raspberry Pi の GPIO にアクセスすることのできるアプリケーションである。WebIOPi をダウンロード、インストールし、Python でプログラムした設定ファイルを読み込むように設定してから起動させる。
- (5) 温度センサの値をブラウザに表示するプログラムを Python で作成する。
- (6) PC のブラウザから Raspberry Pi に割り当てられた IP アドレスにアクセスする。これにより、Raspberry Pi に接続された温度センサが読み込んだ値を PC から読み取ることができるようになる (図 3)。

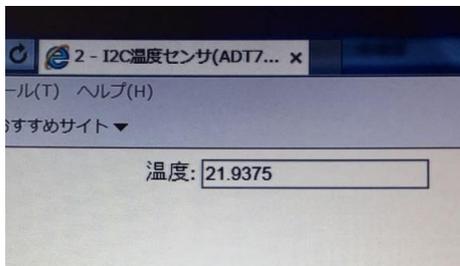


図3 試作したIoTシステムで計測した温度値

以上により、Raspberry Pi をウェブサーバーとして動作させることができるようになった。このアプリケーションを使えば、Raspberry Pi に接続された LED やモータを PC から制御することもできる。

今回、一例として温度センサの情報を取得するIoTシステムについて紹介したが、作業環境や現場の状況に応じて、数多くあるIoTシステムの構成要素の中から最適な組み合わせを検討することが必要である。

次に、本研究で蓄積したIoT技術を活用し県内企業への技術移転に取り組んだ2件の共同研究(事例1「工場内生産設備の稼働率管理のIoT化」、

事例2「高級魚陸上養殖における溶存酸素管理のIoT化」)について成果を報告する。

4 実用化事例1

工場内生産設備の稼働率管理のIoT化

4-1 概要

近年、県内中小製造業では、今後深刻化していく人手不足に対応するため、AIやICT、IoT技術を取り入れた「生産力」のさらなる向上が求められている。一方、これらの技術導入については「機器コストが負担になる」、「コスト削減や効率化の導入効果がわからない」などの課題があり、積極的なIoT導入に至っていない企業が数多くある。

そこで、近年市場に流通するようになった安価で良質なセンサと小型PCを用いて、既存の工作機械に後付けできる稼働率可視化システムの開発というIoT技術を取り入れた工場の生産性向上に取り組んだ。

4-2 研究内容

研究では工場内生産設備の生産性判断のために稼働率管理に注目した。開発するシステムは、稼働率(稼働率=実稼働時間/総作業時間)を求めるために、各生産設備の実稼働時間を把握できるものにすることを目指した。

生産設備本体に直接改造を加えず、設備の実稼働時間を自動的に検出するために、設備稼働中に動作するパトライトの点灯時間を計測するシステムを構築した(図4)。

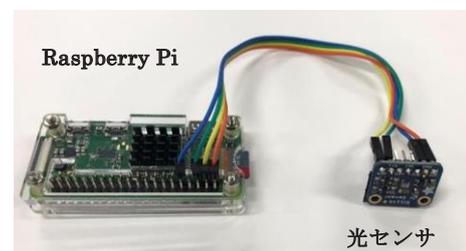


図4 測定システム

装置は、パトライト検出部の光センサ(Adafruit社製SI1145)と制御記録部の小型PC(Raspberry Pi Zero)で構成され、開発言語Pythonでプログラムを作成した。計測したデータはSDカードへ記録し、装置を社内ネットワークに無線で接続し

て運転管理を行った。

開発したシステムは、工場内にある異なる形状、点灯方式のパトライトを持つ生産設備5台に取り付け計測実験を行った。一例として円筒形状のパトライトを持つマシニングセンタに取り付けたシステムの様子を図5に示す。光センサは、パトライトが点灯していない時も一定の強度を検出するため、ある閾値を設定し、パトライトが点灯している時間を設備稼働時間として抽出した。



図5 測定システムを取り付けた様子

4-3 結果およびまとめ

開発したシステムを用いることで、稼働中にパトライトが連続点灯するタイプの生産設備については設備稼働時間を検出することができた。また、容易に稼働率を算定することが可能になった。

従来は、工程計画表をもとに人力で稼働率管理を行っており、実態を完全に把握することは困難であったが、本システムの導入により、実態を反映した稼働率を容易に把握することが可能となった。

今後は、システムに汎用性を持たせるために、今回のパトライト方式とは異なるタイプの生産設備への対応を検討していく。さらに、工場のMAPと連動した集中管理システムの構築へ展開し、工程管理解析の自動化を実現することで、生産力強化へ繋げていく予定である。

5 実用化事例2

高級魚陸上養殖における溶存酸素管理のIoT化

5-1 概要

陸上養殖において、生簀（いけす）の溶存酸素（以下、DO）の管理は、魚の生死や成育の具合に関わるため非常に重要である。日々のDO管理は、現場で

確認し、すべて手作業で行っていることが多く、多大な労力がかかっている。そこで、IoT技術を導入し、酸素供給制御を行い、生簀のDOを適切に保つ方法を検討した。

5-2 研究内容

5-2-1 生簀のDO常時遠隔監視システム構築

はじめに、IoTの活用において一番重要な、センシングおよび遠隔監視を行うシステムについて検討を行った。

養魚場内の状況や通信環境を調査し、DOセンサについては蛍光式を、通信回線については、NTTドコモの携帯電話回線を利用するなど、汎用性、利便性およびメンテナンスなどの実用性を考慮し、システムの構築を行った（図6）。



図6 遠隔監視システム

設置した常時遠隔監視システムにより、DOデータを記録し、生簀の状況とDO変動の関連性について解析を行った。

5-2-2 酸素供給制御の実験

DO解析結果と養殖業者の知見をもとに検討した結果、ある程度の幅を持った酸素供給制御により、生簀のDOを適切に保つことが可能と判断し、IoT機器を設置して実験を行った。生簀への酸素供給は、常時酸素を流す維持流量ルートと電磁弁を介し、生簀のDOによってON/OFFされる調整ルートの2系統とし（図7）、電磁弁トラブルなどの際にも致命的なダメージを押さえられるようにした。また電磁弁については、通常は開いていて通電時に弁を閉じるタイプを採用し、停電時などにも酸素供給が止まることのないよう配慮した。

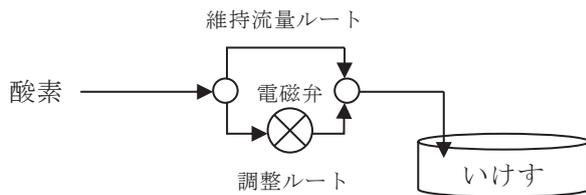


図7 酸素供給状況模式図

5-3 結果およびまとめ

5-3-1 DOの変動と常時遠隔監視システム

設置した常時遠隔監視システムにより収集したDOデータを解析した結果、給餌の際に酸素消費が多くなりDOが低下するが、予想したほどDOが大きく変動することはなく、全般的にDOが上がる傾向が確認された。これにより、酸素供給制御を行うことで夜間のDO上昇を抑えることが可能となったため、酸素使用量を削減できる可能性が高くなった。

5-3-2 酸素供給量制御実験

酸素供給制御方式は、DOが10mg/lを超えたら電磁弁を閉めて酸素供給量を減らし、DOが9mg/lを下回ったら電磁弁を開けて酸素供給量を増やすという方法を用いた。図8および図9に、酸素供給量制御の有無による1日のDOの変化を示す。

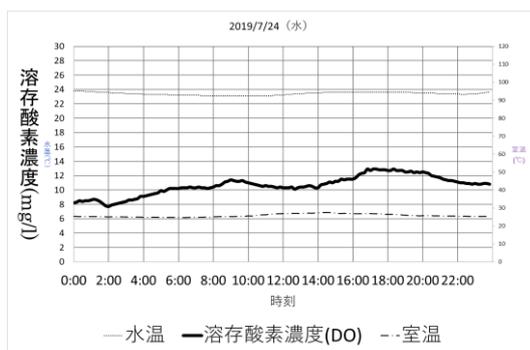


図8 1日(0時~24時)のDOの変化(制御なし)

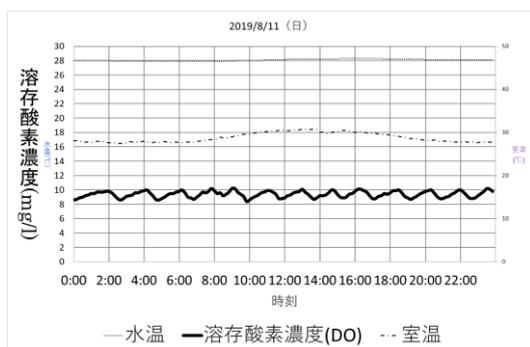


図9 1日(0時~24時)のDOの変化(制御あり)

制御なしの場合は、魚の活動量が落ちるとDOは13mg/l程度まで上昇するが、制御ありの場合は、想定した範囲内でDOが安定している。

今回の実験で、IoTシステムを活用した溶存酸素管理が可能であることが確認できた。また、生簀の規模にも依存するが、酸素供給量をDOに追従させるためにPID制御等を用いなくても、ON/OFF制御で十分にDO制御が可能であり、遠隔監視と自動制御によるDO管理の労力軽減に寄与できることが確認できた。また、これまで一定量の酸素供給を行っていたときには、必要以上にDOが上昇する場合があったが、簡便な本システムでDOの上昇を防ぐことが可能となり、無駄な酸素供給量を減らせることができたため、コスト削減につながった。

今後、複数の生簀管理により、DOその他のパラメータについてデータを蓄積し、より効果的なDO管理につなげていく予定である。

6 まとめ

本研究では、県内中小企業のIoT技術導入支援を行えるようにするため、デバイスやネットワーク、クラウド等の要素技術を検討し、各種センサで取得したデータをクラウドやサーバに保存する技術を蓄積した。これにより、センターにおける企業へのIoT技術支援が可能になった。今後も県内企業のIoT化を推進するために共同研究等による支援事例を増やしていく予定である。

7 謝辞

今回報告した事例1研究は、平成30年度にアルバック機工株式会社と共同研究に取組んだ成果である。また、事例2研究は、有限会社大田商店と平成30年~令和元年度にわたって宮崎県産業振興機構(産学官共同研究開発支援事業:事業可能性調査)により実施したものであることを、記してここに謝意を表す。

8 参考文献

- 1) みやざき産業振興戦略:宮崎県の産業振興に関するアンケート調査結果, 宮崎県商工政策課(2018)
- 2) 金丸隆志:Raspberry Piで学ぶ電子工作, 講談社(2019)

肝臓がん治療用 W/O/W エマルション型動注製剤並びに 肝疾患治療を目指した静注用 S/O/W ナノエマルション製剤の開発と臨床検討

Development and Clinical Assessment of the W/O/W Emulsion Type Drug for Transarterial Injection Chemotherapy for Hepatocellular Carcinoma and the S/O/W Nano-emulsion Drug for the Use of Intravenous Injection Therapy of Hepatic Disease

清水 正高

宮崎県工業技術センター 材料開発部
 〒 880-0303
 宮崎市佐土原町東上那珂 16500-2

Masataka SHIMIZU
 Material Development Department,
 Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center
 16500-2 Higashi-kaminaka, Sadowara-cho, Miyazaki
 880-0303, Japan

東 秀史

メディカルシティ東部病院 肝癌治療センター
 〒 885-0035
 宮崎県都城市立野町 3633-1

Shushi HIGASHI
 Medicalcity, East Hospital Department of Chemotherapy
 for Hepatoma
 3633-1 Tateno-cho, Miyakonojo, Miyazaki
 885-0035, Japan

西片 奈保子

宮崎大学 産学・地域連携センター
 〒 889-2192
 宮崎市学園木花台西 1 丁目 1 番地

Naoko NISHIKATA
 Center for Collaborative Research & Community
 Cooperation, University of Miyazaki
 1-1 Gakuen-kibanadai-nishi, Miyazaki
 889-2192, Japan

論文要旨:筆者らは、直接乳化法と膜透過法と名付けた膜乳化手法を利用し、様々なマルチプルエマルションの新たな製造技術を開発した。直接乳化法によって開発にたどり着いた肝臓がん治療用 W/O/W エマルション型動注製剤では、800 例を超える臨床治療が行われ、良好な治療効果が得られている。一方、膜透過法を基礎に調製される肝疾患治療を目指した静注用ナノエマルション製剤からは、*in vivo* と *in vitro* 研究の中から、細網内皮系回避や細胞ターゲティングに関する興味あるいくつかの知見が得られた。以上、医薬品に向けたマルチプルエマルションの可能性が大きいことに言及する。

Abstract: The authors developed a new technology for preparing various multiple emulsions using the membrane emulsification techniques named the direct emulsification method and the membrane permeation method. More than 800 patients bearing hepatocellular carcinoma have been treated attaining excellent results by transarterial injection chemotherapy with the W/O/W emulsion type drug, prepared by the direct emulsification method. On the other hand, our experimental trial including *in vivo* and *in vitro* fundamental researches with the S/O/W nano-emulsion drugs aimed at intravenous injection therapy for liver disease, prepared based on the membrane permeation method, showed interesting findings concerning a reticle-endothelial system evasion and the cellular targeting. We discuss that the potential of the multiple emulsion is high for medical supplies as things mentioned above.

Key words: membrane emulsification, W/O/W emulsion, S/O/W emulsion, liver cancer, DDS

1 はじめに

医療現場において体内に比較的多量の油脂を直接投与する製剤に「脂肪乳剤^{1, 2)}」がある。消化管機能が衰えた患者、あるいは、術前術後の患者を対象に高カロリー輸液として中心静脈から点滴投与され、卵黄レシチンを乳化剤にして精製ダイズ油をグリセリン水溶液に分散した平均滴径 300~400 nm の O/W エマルジョンである。

特筆すべきは、精製ダイズ油の割合が 10% もしくは 20% の総量 250 mL を 3 時間ほどで静注し、しかも、これを週数回から毎日繰り返すため、大量の油脂が長期にわたって体内に存在することになる。それにも関わらず副作用が少ないと言われ、トリグリセライドが生体にとって安全であり、直接投与される製剤の主原料に安心して利用できることを示唆している。

一方、筆者らは、多孔質ガラス^{3, 4)}を分散素子に滴径が制御されたエマルジョンを生成する「膜乳化法⁵⁻⁷⁾」を提唱し、その応用拡大を図ってきた。本報では、この膜乳化法を駆使して開発した W/O/W エマルジョン製剤と S/O/W エマルジョン製剤について紹介し、マルチプルエマルジョンの医学薬学領域における可能性に言及する。なお、当該研究では、上記トリグリセライドの安全性を生かし、また、現実性を考慮して、注射剤として認可された経験を持つ材料、あるいは、生体に安全なことが示された材料のみを使用した。

ここで、マルチプルエマルジョンを基本剤形とするこの難しさも付記しておきたい。液液分散系であるエマルジョンは物理的な外力に弱く崩壊しやすい。平衡状態でないため液滴の合一も避けられない。内包した薬物の放出メカニズムも多様である。また、各種定量分析と解析手法、正しい滴径の測定方法、製剤製造装置の検討など多くの問題に取り組む必要がある。しかし、本報では誌面の都合上、こうした課題の詳細は割愛し、研究概要のみを紹介することとする。

2 本報におけるマルチプルエマルジョンとは

2・1 多孔質ガラスによる膜乳化法

膜乳化法には「直接乳化法」と「膜透過法」の2つがあり、マルチプルエマルジョンの種類に応じて使い分けられている。いずれも Fig. 1 に示す多孔質ガラスの骨格表面、それと接する水相および油相の三態系を考慮した操作が欠かせないが、詳細は別紙⁵⁻⁷⁾に譲る。

まず、チューブラー形多孔質ガラスを介した O/W エマルジョンの生成概念を Fig. 2 に示し、直接乳化法について紹介する。分散相となるべき油相を加圧して多孔質ガラス膜(脚注)を透過させ、連続水相に油滴を形成させる。この時、細孔径の約 2.8 倍の油滴が生まれ⁶⁾、多孔質ガラス膜面の孔が揃っているため、油滴も単分散となる。滴径をコントロールできる範囲は通常 1~60 μm である。

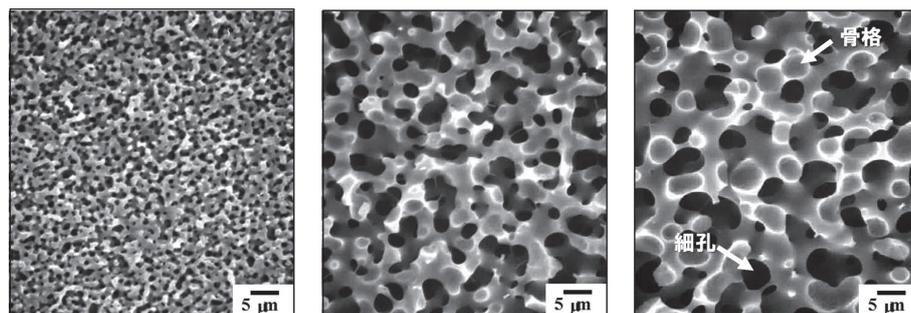


Fig. 1 細孔径が異なる多孔質ガラスの電子顕微鏡写真例

(注) 宮崎県(工業技術センター)が開発したシラス多孔質ガラス膜(SPG膜)(エス・ピー・ジーテクノ(株)製造)。

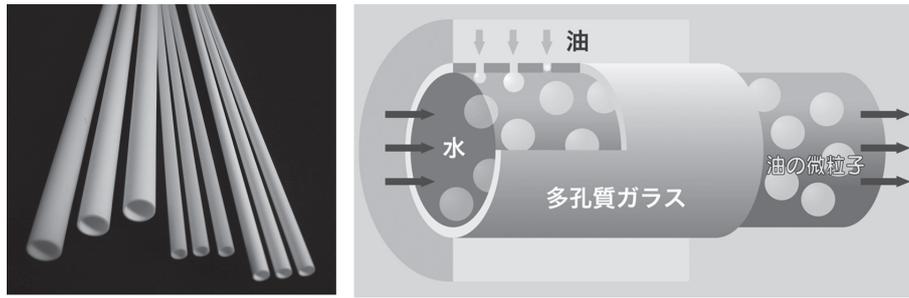


Fig. 2 チューブラー形多孔質ガラスの実物写真(左)と直接乳化法概念図(右)(巻頭カラー写真参照)

次に、プレート形多孔質ガラスを介してO/Wエマルションを生成する膜透過法⁸⁾をFig. 3で例示して紹介する。ここでは、多分散であっても構わないので先に粗なエマルションを調製しておき、これを加圧して強制的に多孔質ガラス膜に透過させ、一挙に油滴径の揃ったナノエマルションに微細化する。その結果、細孔径のほぼ1倍以下の油滴からなる単分散エマルションが生成する。滴径コントロールの範囲は500 nm～5 μmである。

膜乳化法で生成した単分散O/WおよびW/Oエマルションの代表的な光学顕微鏡写真をFig. 4に示した。

2・2 直接乳化法によるW/O/Wエマルションの調製

W/O/Wエマルション⁶⁾は直接乳化法で調製することが多い。通常は、実験用ホモキサーか超音波乳化機を用いてW/Oエマルションを生成し、次に、これを多孔質ガラス膜に透過させて連続水相(外水相)にW/O滴を形成する。

ここで留意すべきことが3点ある。まず、①分散相となるW/Oエマルションの水滴径(内水相滴径)は、多孔質ガラス細孔径の1/2以下しておく。水滴が細孔内を移動する際に抵抗となる場合は濾過に結びつく。同様に、薬物は内水相で完全に溶解させておくか、あるいは、抵抗とならない細孔径の1/3以下に微粒化しておく必要がある。②W/O滴は攪拌や流動などの剪断力に弱いため、膜乳化装置を工夫する必要がある。③界面活性剤、油相の種類、薬物の種類などによって安定性が損なわれることが多く、十分なりサーチが欠かせない。

単分散W/O/Wエマルションの代表的な光学顕微鏡写真をFig. 5Bに示す。W/O滴径は30 μm、内水相滴径は約1 μmであり、無数の内水相滴が内包されてW/O滴は黒く映っている。

2・3 膜透過法によるS/O/Wエマルションの調製

分散相滴が1 μm以下のマルチプルエマルションを欲する声が多い。しかし、上記W/O/Wエマルションでは限界があるため、新たに油中ナノ粒子分散体(以下、「S/Oサスペンション」、分散相滴を「S/O滴」と仮称する)を開発^{9, 10)}し、これを外水相に分散した粗なS/

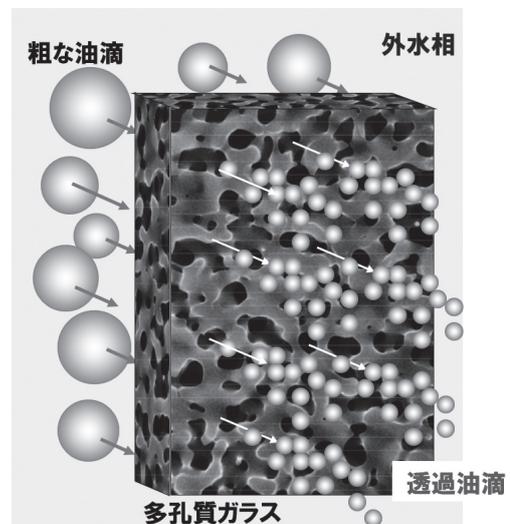


Fig. 3 膜透過法概念図

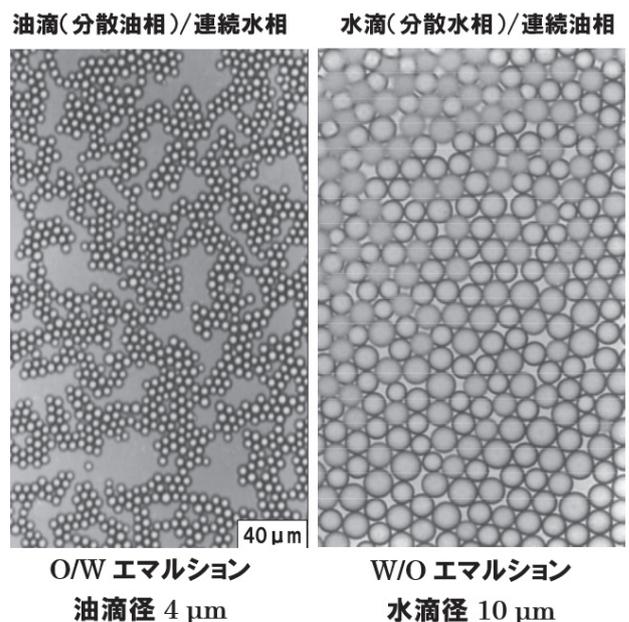


Fig. 4 膜乳化法で調製した単分散エマルションの光学顕微鏡写真例

O/Wエマルションから膜透過を経てサブミクロンS/O滴で構成されるS/O/Wエマルション¹¹⁾を製造するこ

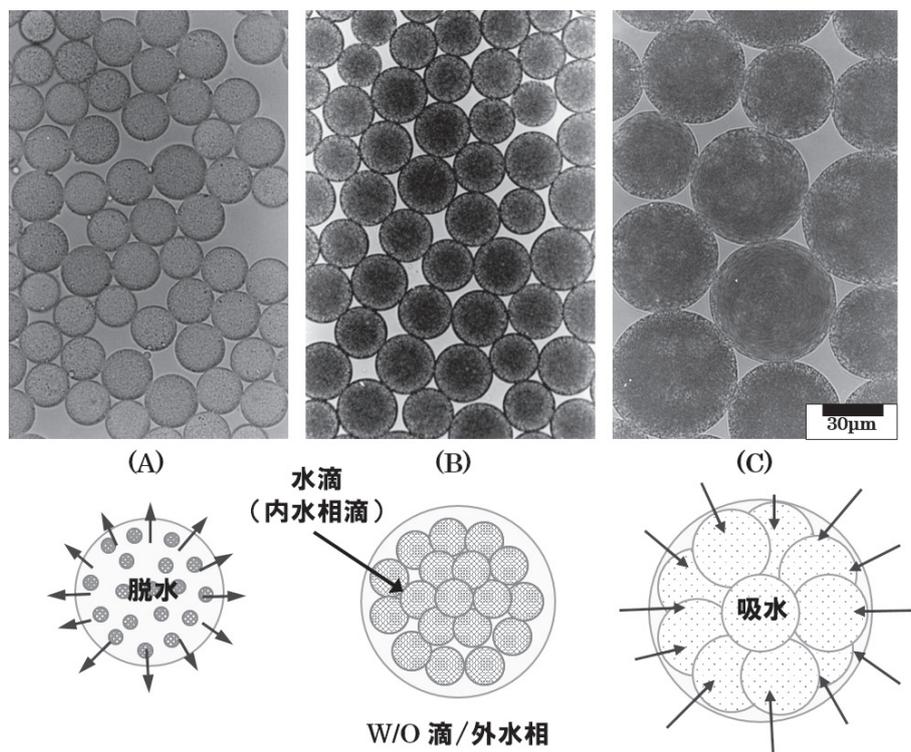


Fig. 5 W/O/W エマルション W/O 滴の浸透圧差による収縮膨張

とに成功した。ナノS粒子は水溶性物質であるためS/O滴から放出されやすいが、DDS製剤として満足できる6か月以上の安定性を得た。

多孔質ガラスによる膜透過では約500nmまでがS/O滴の製造限界である。実際には、これより小さくするためにポリカーボネート製Nuclepore膜やアルミニウム陽極酸化膜などを用いて段階的に小さくする手法を用いている。

2・4 浸透圧と溶質透過の課題克服

油相に溶解した油性界面活性剤は、界面に配向してマルチプルエマルションを安定にするだけでなく、キャリアとして水分子を油相透過させることがある。駆動力は見かけ上浸透圧差^{12, 13)}になる。Fig. 5Bは内水相と外水相が等張条件で調製したW/O/Wエマルション、その外水相に塩を添加して浸透圧を上げ、水を放出させて内水相滴を収縮させた場合をFig. 5Aに、逆に水で希釈して浸透圧を下げ、水を取り込み内水相滴を膨張させた場合をFig. 5Cに示す。

S/O/Wエマルションにおいても浸透圧差による水分子の油相内移動は同様に起こる。しかし、S粒子近傍は薬物の飽和濃度と考えられ、低分子物質であれば極めて浸透圧が高くなり安定性が確保できない。すなわち、S/O/Wエマルションは浸透圧が低い薬物を内包するケースに適している。

マルチプルエマルション研究で常に苦労することは薬

物の内包量である。本来であれば、ある一定空間の水溶液に溶解する薬物を内水相滴やS粒子の“点”に濃縮させることになり、薬物の溶解度が極めて重要になってくる。また、薬物の放出メカニズムも多様であり、マルチプル構造の破壊、薬物の油相分配、界面活性剤がキャリアとなる油相内拡散移動など、明確にすべき項目が多い。

3 医学薬学的な応用・医薬品への展開

3・1 肝臓がん治療用W/O/Wエマルション型動注製剤

がん死亡数の第5位を占めている肝臓がんの中で最も多いのは、C型肝炎から肝硬変を経て発症する原発性肝細胞がんである。治療法は、手術による肝切除、ラジオ波灼熱療法、肝動脈化学塞栓療法が中心であり、分子標的薬もある¹⁴⁾。

肝動脈化学塞栓療法では、ジノスタチン・スチマラマー(スマンクス)をヨード化ケシ油脂脂肪酸エチルエステル(リピオドール)に懸濁する用時調製製剤¹⁵⁾が知られていた。しかし、筆者らはマルチプルエマルションに動注製剤の可能性を見だし、本報で紹介する肝臓がん治療用W/O/Wエマルション型動注製剤¹⁶⁻¹⁸⁾を開発した。抗がん剤にはアントラサイクリン系で溶解度が高い塩酸エピルピシン、油相にはリピオドールと油性界面活性剤のテトラグリセリン縮合リシノレイン酸エステルTGCR、外水相には水性界面活性剤のポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(酸化エチレン付加60モル)HCO-60

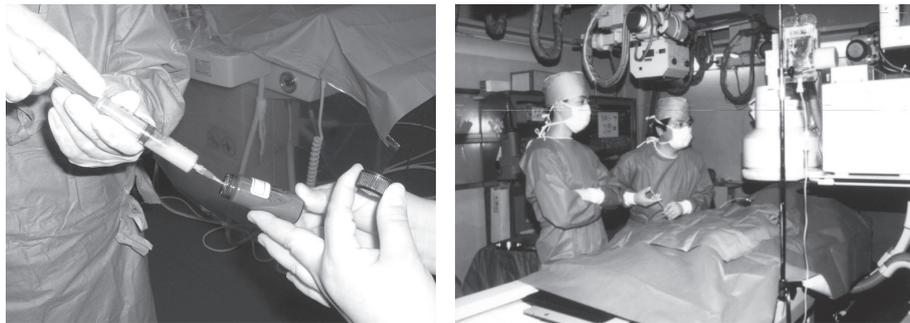


Fig. 6 赤い動注製剤を準備して患者にカテーテル注入する様子(巻頭カラー写真参照)

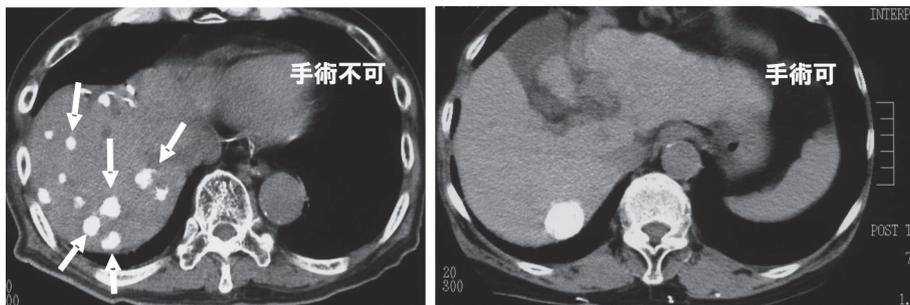


Fig. 7 製剤により白く造影した腫瘍(左は多発性, 右は手術可能な腫瘍)

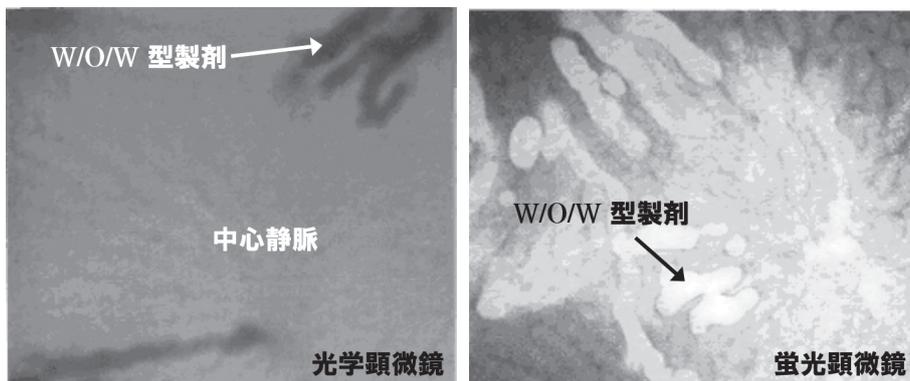


Fig. 8 蛍光物質内包 W/O/W エマルジョン型製剤を肝臓に動注した後の W/O 滴存在を光学および蛍光顕微鏡で観察した写真(巻頭カラー写真参照)

を添加した NaCl 水溶液を用いた。

この製剤は治療前に患者一人分を用時調製し、カテーテルを用いて肝動脈から肝臓組織内腫瘍を狙って注入する。リピドールは油性造影剤であるため、X線撮影によって製剤が腫瘍に到達しているか、また、腫瘍沈着の状態を知ることができる。抗がん剤は通常使用量の2~3倍を内包し治療効果が極めて大きい。

ここでのポイントは、確実に沈着する W/O 滴径 70 μm と腫瘍組織からは排出されない高粘度を製剤に持たせることであった。そこで筆者らは、高濃度抗がん剤を内包させた内水相滴に向かって低浸透圧の外水相から水が移動する処方設計し、最終的に 70 μm の W/O 滴が充填密度 75 vol% になった W/O/W エマルジョン型製剤を調製した。これは非ニュートン流体であり、剪断

速度が大きい場合はカテーテル内を流動するが、いったん腫瘍組織近傍の血管を閉塞した後は、血圧によっても容易に排出されない。

この製剤は巨大な腫瘍や多発性の肝細胞がんに対して良好な治療効果が認められた。Fig. 6 に動注治療風景、Fig. 7 に製剤が沈着して白く造影された X 線写真、Fig. 8 にラットの肝臓類洞に注入した W/O 滴の光学および蛍光顕微鏡写真を示す。内径が約 10 μm ¹⁹⁾ の類洞に 70 μm の W/O 滴が変形してとどまっており、塞栓効果も発揮している。メディカルシティ東部病院では 2009 年以降 800 例を超える治療を行っており、重篤な副作用の報告はない。

3・2 肝疾患治療を目指した静注用エマルジョン製剤

肝炎、肝硬変あるいは肝細胞がんなどの肝疾患治療を

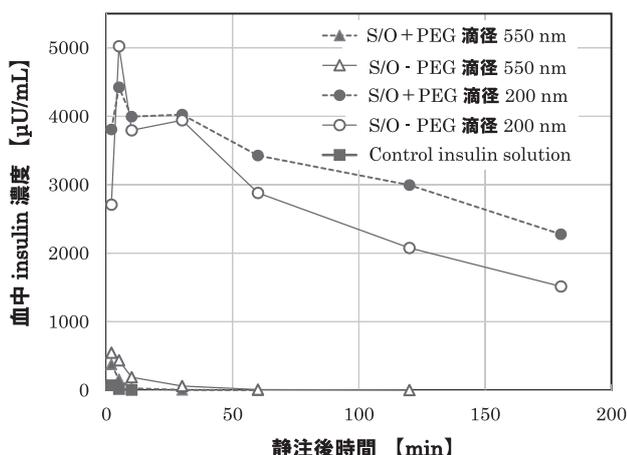


Fig. 9 インスリンを内包したS/O/W エマルション製剤をラットに静注した血中濃度変化

目指した静注用 DDS 製剤に S/O/W エマルションが適応できないか検討²⁰⁾してきた。薬物は生理活性物質などであり、細網内皮系 RES 回避とターゲティングの両機能を付与したいと考え、RES 回避の実証は *in vivo*、ターゲティングの可能性探索は *in vitro* で行った。

in vivo 試験では、リコンビナントヒトインスリン rh-insulin あるいは蛍光標識デキストラン FITC-Dextran (Mw 70,000) などの模擬物質を S 粒子、油相を精製ダイズ油と TGCR、外水相には HCO-60 やポロキサマー、浸透圧調整に Glucose を用いる処方 S/O/W エマルション型製剤を調製した。なお、RES 回避のために油相へモノオレイン酸ポリエチレングリコールを添加し、外水相側界面へポリエチレングリコール PEG 鎖を配向させた S/O/W (+PEG) エマルション型製剤も用意した。これらをラットやマウスに尾静注して血中濃度などを測定した。その結果の一例を Fig. 9 に示す。S/O 滴径の効果は著しく、以前から言われているように 200 nm のものは免疫系を回避²¹⁾して血中を滞留した。550 nm 程度では消失が早く、クッパー細胞などによって貪食されたと推測された。一方、PEG 鎖の効果はほとんどな

かった。高密度リポタンパク HDL からアポタンパクを受け渡されてカイロミクロン類似液滴と認識¹⁾されたためではないかと考えられる。ただし、この分析では S/O 滴内と破壊漏洩したインスリンの区別はない。

他方、ターゲティング機能の研究中に、培養がん細胞によって S/O 滴が取り込まれる現象を見いだした。肝がん細胞 Huh-7 内に FITC-Dextran を内包する S/O 滴が取り込まれたことを示す写真を Fig. 10A、同じく Huh-7 にプラスミド GFP (pEGFP)-S/O 滴が取り込まれた写真を Fig. 10B、胎児肺繊維芽細胞 MRC-5 に pEGFP-S/O 滴が取り込まれた写真を Fig. 10C に例示する。Fig. 10B と Fig. 10C は GFP が発現し、タンパク質生成が見られた^{22, 23)}。しかし、再現性や発現の確率が低いことも多く、研究すべき課題が数多く残されている。

S/O 滴の取り込み経路はエンドサイトーシスではないかと推測される。しかし、細胞種によって取り込み確率が大きく異なり、議論を深めるにはまだ十分なデータが揃っていない。不思議なことに、滴径やトリグリセライドの種類などが細胞の取り込みに決定的な影響を及ぼしているようには見えなかった。

4 おわりに

膜乳化法では、一義的に細孔径によって滴径が決定され、通常エマルション生成に影響する界面張力、粘度、油水体積比、分散相の移動速度、連続相剪断速度などのファクターが滴径を大きく左右することはない。しかし、膜乳化法の成立には、安定性に関わる界面活性剤、油相および内包する薬物の種類などの影響が非常に大きい。多孔質ガラスの骨格表面、水相および油相の三態系も決定的な影響を及ぼす。また、操作が煩雑で、化学工学的手法を駆使する必要があるなど、決して一般受けする乳化学技術ではない。

それにもかかわらず膜乳化法の研究が一部熱心に行われているのは、単分散エマルションを比較的自在に調製

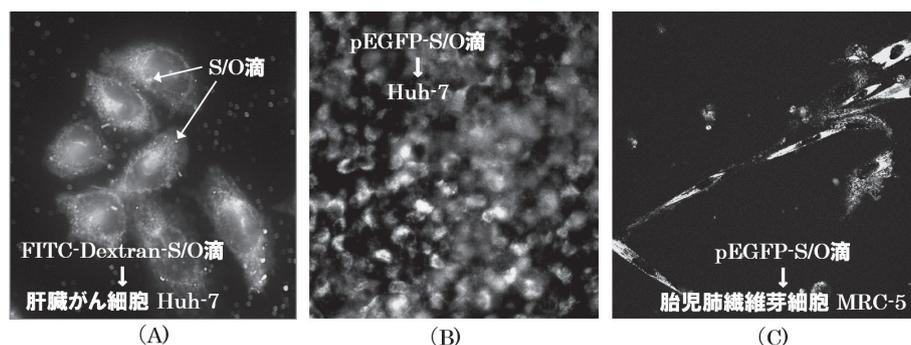


Fig. 10 蛍光物質あるいはプラスミド GFP を内包した W/O 滴が細胞内に取り込まれたため細胞が緑色に呈色した蛍光顕微鏡写真 (巻頭カラー写真参照)

できる技術が他に見あたらないためである。単分散エマルションを用いた場合、機能、物性および安定性がより明瞭に比較確認できるなど研究上のメリットも多い。

本報では、肝臓がん治療用W/O/Wエマルション型動注製剤と肝疾患治療を目指した静注用ナノエマルション製剤の研究成果を紹介した。マルチプルエマルションは液体カプセルと言い換えることができ、先述したようにメリットとデメリットがあるが、現在、ほぼ原型は完成している。今後は、液体カプセルに何を内包させるのか検討すればよく、応用を広げる段階にある。経口や経皮製剤のほか、機能性食品や化粧品、新たな機能カプセルなど他分野でも注目されている。

謝 辞

本報のマルチプルエマルション研究を進めるにあたり、メディカルシティ東部病院肝臓治療センター、一般財団法人九州医療資源財団、宮崎大学医学部附属病院薬剤部、宮崎大学医学部機能制御学講座および九州保健福祉大学薬学部の先生方、また、エス・ピー・ジーテクノ株式会社および株式会社キヨモトテックイチなど多くの企業関係者にご支援を賜りました。記して謝意を表します。

文 献

- 1) 大塚製薬輸液DIセンター. 医薬品インタビューフォーム「イントラリポス輸液10%, 20%」(2011).
- 2) 瀧藤克也. 日本静脈経腸栄養学会誌 **33**, 726-730(2018).
- 3) 中島忠夫, 清水正高. セラミックス **21**, 408-412 (1986).
- 4) Nakashima, T.; Shimizu, M. *J. Ceram. Soc. Jpn.* **101**, 528-533 (1993).
- 5) 清水正高, 中島忠夫, 久木崎雅人. 化学工学論文集 **28**, 310-319 (2002).
- 6) 清水正高, 中島忠夫. 膜 MEMBRANE, **31**, 51-56(2006).
- 7) 清水正高. *FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN* **209**, 931-937 (2004).
- 8) Goran, T. V.; Shimizu, M.; Nakashima, T.; *J. Membrane Sci.* **250**, 69-77 (2005).
- 9) 清水正高, 久木崎雅人, 中島忠夫. 特許 4250740.
- 10) 濱山真吾, 清水正高, 山本建次. PCT/JP2016/051195 *et al.*
- 11) 清水正高, 久木崎雅人, 中島忠夫. 特許 4269078.
- 12) 清水正高, 中島忠夫, 久木崎雅人. 化学工学論文集 **28**, 304-309 (2002).
- 13) 清水正高, 中島忠夫. 膜 MEMBRANE, **31**, 101-106 (2006).
- 14) 国立がん研究センター/がん情報サービス <https://gan.joho.jp/>
- 15) アステラス製薬. 医薬品インタビューフォーム「肝細胞癌治療剤スマンクス」(2010).
- 16) 東秀史, 清水正高, 瀬戸口敏明. *DDS* **8**, 59-61 (1993).
- 17) Higashi, S.; Shimizu, M. *et al. CANCER* **75**, 1245-1254 (1995).
- 18) 中島忠夫, 清水正高, 久木崎雅人. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **45**, 47-56 (2000).
- 19) 和氣健二郎. 電子顕微鏡 **30**, 181-189 (1995).
- 20) 清水正高, 西片奈保子ら. 特許 5028564.
- 21) 西片奈保子ら. 遺伝子・デリバリー研究会第7回シンポジウム, 東京 (2007).
- 22) 西片奈保子ら. 第23回日本DDS学会学術集会, 熊本 (2007).
- 23) 西片奈保子ら. 第14回肝細胞研究会, 鹿児島 (2007).

特集Ⅱ

太陽光発電設備の安全性に関する諸様相

太陽光発電所の雷害事例より その調査手法と対策を考える

Consideration of Investigation Methods Learned from the Lightning Damages of Solar Power Plants

金丸義男*1 鳥原 亮*2

1. はじめに

電気設備の保安管理において、雷被害への対策は重要なものであることは周知の事実である。これは太陽光発電所でも当然である。筆者らの一人が電気設備を管理する宮崎県内では2015年8月6日から7日にかけて強い雷雨があり、自身が県内中部にて管理する出力2MW規模の太陽光発電所も雷の被害に遭った。直後の点検では目視等による異常は確認できなかったものの、日が経つに連れて太陽電池モジュール（PVモジュール）の異常が目立つようになり、被害が拡大していることを認識した。他方、同日に県内南部において落雷が多発した地域の太陽光発電所の状況を確認したところ、大きな被害が無いという事実もあった。

本稿では、雷害のあった発電所と被害のなかった発電所で、被害の状況、設備や施工状況を比較しながら、太陽光発電所の雷害対策のキーポイントや保安点検の在り方について考えていきたい。

2. 雷被害と調査の概要

被害のあった発電所（A発電所）では2015年8月7日0時4分29秒にパワーコンディショナ（PCS Power Conditioner System）盤にて太陽電池側からの直流過電流が検出され、停止した。重故障は関係者にアラートメールにより通知される。翌朝PCSメーカーと連絡を取り合ったうえで、システム復帰・連系を行った。システムは正常に運転を開始した。なお、このとき、発電所全体を目視にて大まかな点検をしたが、PVモジュールの破損等、目立った故障は見当たらなかった。図1にA発電所の概観を示す。

約1か月後の9月5日、月次点検のためこの発電



図1 A発電所の概観

所を訪れた際、メンテナンス業者から雷撃によるPVモジュールの損傷は47枚という報告がなされたため、現地にて詳細に調査を行うこととした。A発電所は化合物系PVモジュールを用いており、ストリングはモジュール8直列4並列からなる。調査は主に、発電時のストリング電流、停止時の開放電圧及び絶縁抵抗測定を行った。調査時の結果の一例を図2に示す。一部のストリングで、発電電流が著

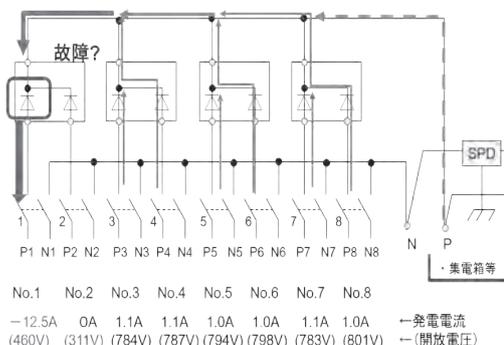


図2 各ストリングの開放電圧、発電電流及び逆流経路

*1 (一社)九州電気管理技術者協会宮崎県支部

*2 宮崎県工業技術センター 機械電子部

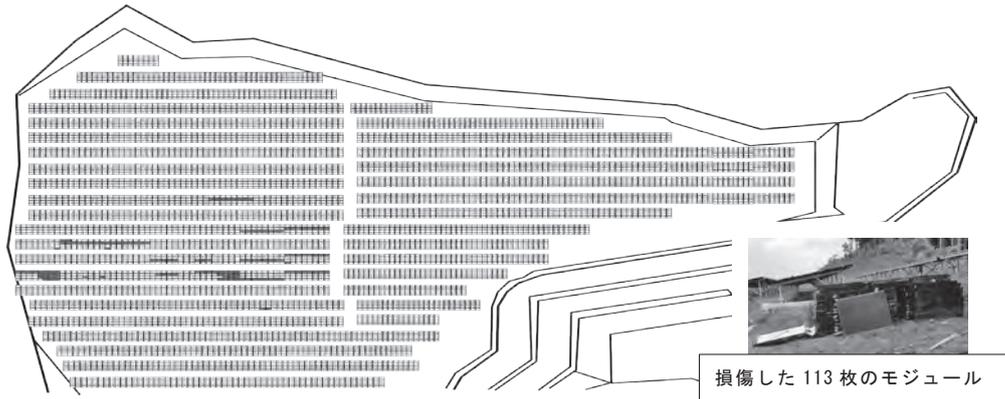


図3 A発電所のモジュール配置図（着色部が損傷したPVモジュール）

しく低い箇所や逆流が認められ、そのストリングの開放電圧は、健全なストリングよりも低いことが確認された。また、接続箱内にあるブロッキングダイオードにも損傷が確認され、内部でショート状態であった。

図2のストリングNo.1においては開放電圧が460V、ストリングNo.2では311Vであり、定格開放電圧（880V）の約6割～4割の電圧しかなかった。また、ストリングNo.1は発電電流がマイナスであり、同一接続箱の他のストリングから電流が流れていることは確認できたが、その逆電流が他のストリングの発電電流の合計より大きいことから、PCS盤の直流幹線のブスバーからの逆電流がある可能性が考えられた。PCS盤から各接続箱の配線状況を図4に示す。

逆電流は、やがてPCS盤内のヒューズを溶断することで収まったと思われるが、各ストリングからの逆流は続いていたため、その後も被害の拡大は続き、最終的に損傷のあったPVモジュールは113枚であった（図3）。PVモジュールの損傷は、主にモジュール裏面にあるバイパスダイオードの損傷（図5）が多く、中にはタブ線の焦げ（図6）なども見

られた。

損傷したPVモジュールの位置は、図3に示す通り、一部のアレイに集中している傾向があった。加えて損傷のあるPVモジュールを含むストリングでは、直列接続のモジュール8枚すべてが損傷している箇所も多く見られた。なぜこのように偏った損傷が起きたのか、現地調査初期の段階では理解に苦しんだ。現在保安管理をされている主任技術者の方々やメンテナンス業者の方々もこのような事態に遭遇する可能性があるため、この原因をなるべく詳しく説明していきたい。

化合物系PVモジュールは結晶シリコン系のPVモジュールと比較して、開放電圧が3～4倍、短絡電流は1/3～1/4倍という特長があるため、化合物系PVモジュールを使用する太陽光発電所では、接

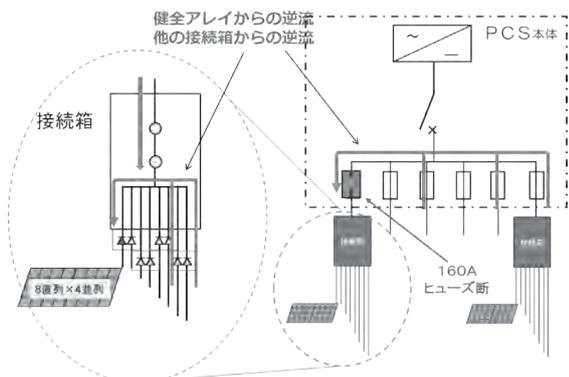


図4 PCS盤から各接続箱の配線状況及び損傷部への逆電流経路

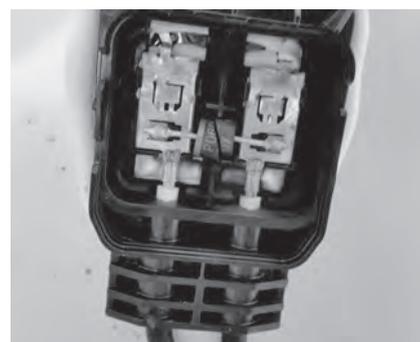


図5 バイパスダイオードの損傷状況

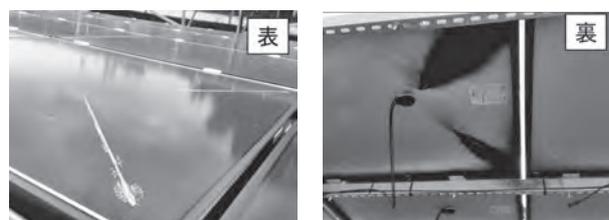


図6 高熱によると思われるPVモジュール内タブ線の損傷状況

続箱にケーブルが集約されるまでに、設計した電圧・電流になるよう、直並列接続されることが一般的である。この中の直列接続されたPV モジュール群をサブistringと呼ぶことにする。A 発電所ではサブistring (8 直列) を4 並列接続した後、それらをistringとして接続箱の開閉器に接続している。調査では、逆流電流を生じているistringにおいて、各PV モジュール表面両端の電極部及び裏面のジャンクションボックスまでの電極線の通電状況を(株)アイテス社製ソラメンテ iSにて確認した。事例の一つとして図2に示した8つのistringのうち、No.2のistringを測定した結果をもとに話を進める。No.2のistringでは1つのサブistringで4枚のモジュールにバイパスダイオードが短絡故障状態にあることが分かった。各サブistringの開放電圧は約750Vであるのに対し、故障を含むサブistringでは311Vであり、このistringには図7に示す発電電流のループがあることが確認された。このようなistring構成の場合、ループ電流を防止するためにはサブistring毎に逆流防止素子やヒューズ等による保護措置を行う必要があるが、当該発電所ではそのような設計・施工ではなかったことが、被害の拡大の一因になった可能性がある。しかしながら、化合物系PV モジュールの発電所では、このようなケースが多数あるのではないだろうかという不安がある。

次に、接地の状態について説明する。A 発電所ではPV モジュールのフレームと架台の金属部とが、図8に示す押さえ金具によって固定されている。これを聞いただけで「接地が取れている」と思われる方も少なくはないであろう。しかしながら、フレームや押さえ金具にはアルマイト加工処理されているものが多く、そのほとんどは通電しない被膜がフレーム及び押さえ金具の表面を覆っている。A 発電

所はまさにその通りであり、フレームと押さえ金具には電気的な導通は無く、結果として接地されていない状態であった。他の発電所ではフレームの被覆を突き破るためのアースプレート(歯付きプレート)を備えた押さえ金具を採用している発電所もあったので、太陽光発電所の主任技術者は、自身が管理する発電所にて現状を確認すべきである。

また、架台毎の接地抵抗値を測定したところ、どの架台も基準とする10Ω以下であるものの、それぞれ1Ωから4Ω程度のバラツキがあることが確認された。図3の配置図において、中央にある通路を挟んで左右、および上下に並ぶ架台の列には、それぞれ接地線が地中に埋設されていたが、架台同士の連結は無く接地抵抗値も異なっていた。図9に接地抵抗値のバラツキの例を示す。

接地抵抗値とPV モジュールの被害の関係に着目すると、接地抵抗値の高い架台ほどPV モジュールの損傷が多い傾向が見て取れる。電技解釈においては基準値を下回る接地抵抗値であれば「良」であるが、このようなケースを見る限り、やはり接地の等電位化は必要である。なお、自身が管理する太陽光発電所において、等電位であるかどうかを調べたい場合、保護導通試験器により測定する方法もあるが、

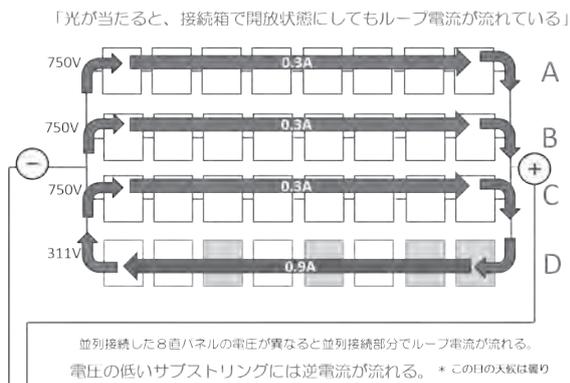


図7 No.2のistring内の電流ループ状況

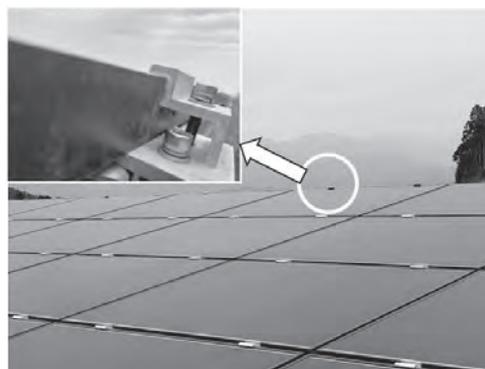


図8 押さえ金具によるモジュール固定

アース工事(接地棒)単体で測定すると皆100Ω以上で基準外、杭打ち工法の杭により下記の接地抵抗値になっている模様。また列間の抵抗差もバラバラだった。

5m×10m・アース棒 [被害モジュール20枚]	3.0Ω	2.3Ω	5m×10m・アース棒 [被害モジュール無し]
5m×10m・アース棒 [被害モジュール25枚]	4.0Ω	2.3Ω	5m×10m・アース棒 [被害モジュール無し]
5m×10m・アース棒 [被害モジュール59枚]	3.8Ω	1.2Ω	5m×10m・アース棒 [被害モジュール無し]
5m×10m・アース棒 [被害モジュール無し]	4.0Ω	1.8Ω	5m×10m・アース棒 [被害モジュール無し]

図9 架台毎の接地抵抗値測定例

マルチテスター等で架台同士の抵抗差を測定することでもおおよそ判定できる。経験的な私見になるが、架台同士の抵抗差が1Ω以下であれば、等電位とみなして良いと考えている。

3. 雷被害の無かった他発電所との比較

A 発電所の雷被害発生約3時間前、宮崎県南部のB 発電所では、8月6日20時50分24秒に直流過電流によりPCSが故障停止となった。付近の落雷の有無については、当日の雷雲の動き及びフランクリンジャパンの落雷証明により、同時刻に落雷が多発していたことを確認している。B 発電所ではPV モジュールに被害は無く、復帰操作後、翌日には通常どおり発電を再開していた。PV モジュールの種類及び接続箱内部の部品等はA 発電所と大きな違いはなかったが、やはり接地の状況に大きな違いがあった。すなわち、B 発電所はモジュールのフレームと架台をボルトで固定しており、アルマイト加工の被覆を突き破るための菊座金を使用していた(図10)。

また、架台間もアース線で電気的に接続されており、等電位を図った施工を行っていた(図11)。

筆者らが同様の雷被害を受けた岐阜、熊本、鹿児島太陽光発電所にも足を運び状況を調査したところ、被害が大きかった発電所では、アース取付け金具の緩みによる等電位化のミスやそもそも等電位化されていないという状態であり、被害の少なかった発電所ではやはり等電位化ができていた。ただし、

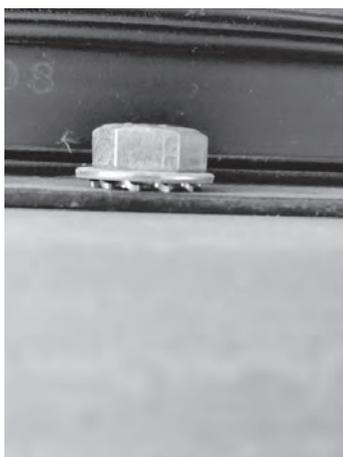


図10 モジュールフレームと架台の固定状況 (菊座金を使用)



図11 等電位化を目指した施工状況

被害が大きかった発電所では3か月後、被害が少なかった発電所では2年後にPCS盤にて直流地絡を検出し、調査の結果ブロッキングダイオードの地絡が確認された。これは雷被害の後遺症として、遅れて発生した損傷の蓋然性が高い。各保護機器は、一時の雷害には耐えたように見えて、実際はダメージを受けており、そのダメージは蓄積されていくと思われる。

4. おわりに

本報では、太陽光発電所の雷害事例から筆者らが悩みながら原因追求を行った過程と、雷被害から発電所を守るための対策について報告した。保安管理者のポイントとして、落雷や雷光等に起因する過電流によるPCS停止の時は、復帰操作だけで済ませることなく、ストリングの発電電流が低い箇所は無いのか、また、逆電流が生じていないか、開放電圧に大きな差が無いか等を確認する必要がある。特に、雷害の後遺症は遅れて顕在化する可能性があることも留意すべきである。

さらに、雷被害を最小限に留めるには接地が重要であり、モジュールフレーム～架台～接続箱～集電箱～PCS収容部が等電位化されていることを確認すべきである。特にフレームと架台間が絶縁状態になっていないか、また、架台と架台間の抵抗差が1Ω以上になっていないかという点も確認することが重要である。

最後に、本報が太陽光発電所の安全性向上の一助となれば幸いである。

新品種加工用大根「悠白」の干したくあん加工適性に関する研究

平川 良子*1・高橋 克嘉*1・松浦 靖*2・永山 志穂*1

Development of Processability for Dried Takuan-Zuke of Radish 'Yuhaku'

Yoshiko HIRAKAWA, Katsuyoshi TAKAHASHI, Yasushi MATSUURA and
Shiho NAGAYAMA

農研機構が育種開発した黄変やたくあん臭を生じない新品種の加工用大根「悠白」について、干したくあんの原料大根としての加工適性を検討した。「悠白」は、干したくあんに加工することで外観は褐変や米ぬか色に変化した。「悠白」に含まれるグルコシノレートの主な成分のグルコエルシンは、干したくあんに1ヶ月貯蔵したところほとんど消失した。「悠白」を原料とした干したくあんは、いわゆる「たくあん臭」は発生しなかったが、貯蔵中に発酵・代謝関連物質に由来する香り成分の発生が認められた。「悠白」は、干したくあんの原料でなく、グルコシノレートの辛味の特徴を生かして浅漬け等の原料に適すると思われた。

1 はじめに

当県は、加工・業務用向け大根の生産量が全国1位である。平成30年産の全国の加工・業務用向け大根生産量286,300トンのうち、当県生産量は約22% (62,463トン) を占める¹⁾。加工・業務用向け大根を、10日から2週間天日で干し塩と米ぬかなどに漬けて生産される干したくあんは、当県の伝統的な漬物であり、生産量全国1位(宮崎市田野総合支所農林水産課調べ)を誇る。

平成21年度に当センターは、大根に含まれる血圧降下作用がある機能性成分γ-アミノ酪酸(GABA)が、天日乾燥中に2週間で約7倍増加することを確認した²⁾。宮崎大学は、干したくあん乾燥粉末0.3%を含めた食餌(0.002%GABA含有)を、自然発症高血圧ラットに与えたところ、血圧上昇が抑制されたことを確認した³⁾。

干したくあんに血圧降下作用の機能性が期待され、当県の新たなブランド化に取り組む一方、国内のたくあんの需要は減少している。減少の理由に、たくあんの黄色や臭いを敬遠する人が、若年層を中心に増えていることが上げられる⁴⁾。

大根は、組織が破壊されることで、大根に含まれ

るミロシナーゼ酵素が、グルコシノレートの一つであるグルコラファサチンを分解することで、大根の辛味成分であるラファサチンに変化し、さらに黄色色素やたくあん臭に変化する⁵⁾。国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(以下「農研機構」と言う。)は、黄変やたくあん臭を生じない新品種の加工用大根「悠白」(品種登録番号:26230号)を育種開発した。「悠白」のグルコシノレートは、主にグルコエルシンを含むため、グルコラファサチンが分解され生じる黄変やたくあん臭は発生しない⁶⁾。農研機構では、塩蔵たくあん漬けに加工した「悠白」は、漬け樽の中で1年間冷蔵保存しても黄変は観察されず、メチルメルカプタン検知管での臭い測定では、たくあん臭は確認されなかったことを報告している⁶⁾。しかしながら、「悠白」を干したくあんに加工し、色や臭いの確認は行われていないため、「悠白」の干したくあんの加工適性は不明である。

今後、たくあんの需要を増やすには、若年層の嗜好にもあった、たくあん商品の開発が望まれる。そこで本研究では、「悠白」の特性を生かした干したくあん開発の可能性を明らかにすることを目的に、「悠白」を使って干したくあんの試作ならびに貯蔵における外観、グルコシノレートおよび香りの経時変化を確認し、干したくあんの加工適性を検討した。

*1 食品開発部

*2 食品開発部(現 宮崎県環境森林部環境管理課)

2 実験方法

2-1 干したくあんの試作

1) 原料大根

「悠白」および当県干したくあん原料の主要品種である「日向理想」を対照として用いた(図1)。

原料大根は、総合農業試験場畑作支場で、平成29年9月19日に植え付け、平成29年12月12日に収穫された大根を使用した。



図1 原料大根(左:日向理想 右:悠白)

2) 天日乾燥

原料大根は、当センターで葉付きのまま洗浄後、葉の部分をビニール紐で結び、センター屋外で、平成29年12月13日から平成29年12月26日までの14日間物干しをおこなって吊し、天日乾燥させた(図2)。



図2 センター屋外での天日乾燥

3) 漬け込み・貯蔵

乾燥した大根3本に対し、貯蔵期間に応じて塩と米ぬかの配合割合(表1)を変え、ポリ袋に入れて4℃冷蔵で、1ヶ月間(平成29年12月27日から平成30年1月29日)、3ヶ月間(平成29年12月27日から平成30年3月27日)

および5ヶ月間(平成29年12月27日から平成30年5月28日)貯蔵した。

表1 貯蔵期間ごとの塩と米ぬかの配合割合

貯蔵期間	3本(5リットル樽換算)	
	食塩(g)	米ぬか(g)
1ヶ月	140	180
3ヶ月	200	120
5ヶ月	220	80

2-2 外観

貯蔵後洗浄し水分を拭き取った干したくあんの外観について、デジタルカメラ(Canon 25X)で撮影し、ビジュアルアナライザー(アルファ・モス, IRIS)で数値化した。

2-3 グルコシノレートの測定

1) 供試材料

外観撮影後の干したくあんを、2cm程度の輪切りにし、さらに4等分した。各輪切りの4等分の中から2片を選んで、真空凍結乾燥機(日本テクノサービス(株), FD-10BU-SS)で乾燥後、粉碎機(Retsch, 2M200)で粉末にし、分析に供した。

2) グルコシノレート粗抽出液の調整

グルコシノレート定量・定性分析には、一般的に用いられているデスルホ体分析法を用いた⁸⁾。

干したくあん粉末0.1gを15mlスクリーキャップ付き遠心チューブに入れ、75℃の恒温槽(ADVANTEC, LS-306)に1分間静置させ、大根のミロシナーゼを失活させた。チューブに75℃恒温槽で温めた80%メタノール1.5mlと内部標準物質のシニグリン(5mM)を0.2ml入れ、75℃恒温槽で10分間静置させた。チューブを水道水で常温に冷却し、軽くボルテックスミキサー(Scientific Industries)でかくはん後、遠心分離機(KUBOTA, 7930)で5分間遠心分離(1,600×g)し、上清を5mlメスフラスコに分取した。チューブの沈殿物に80%メタノールを1.5ml加え、同じ抽出操作を2回繰り返し、上清を5mlメスフラスコに分取した。5mlメスフラスコを80%メタノールで定容後、15ml

スクリーキャップ付き遠心チューブに移した。チューブを 1,600×g で 10 分間遠心分離し、上清をグルコシノレート粗抽出液とした。

3) デスルホグルコシノレートの調整

1,000 μl のピペットチップに、ピンセットで適量の石英綿を入れ、先端部に栓をした。チップに活性化させた sephadexA-25 陰イオン交換樹脂をピペット先端部から高さ 2.7 cm の高さまで充填し、ミニカラムとして使用した (図 3)。



図 3 作成したミニカラム

ミニカラム内の樹脂を 1 ml の蒸留水で洗い、グルコシノレート粗抽出液 1 ml を添加した。ミニカラムを 1 ml の蒸留水で 2 回洗った後、0.5 ml の 0.02 M 酢酸バッファー (pH 5) で 2 回洗った。カラム内部の溶液が完全に排出した後、カラムの先端部をパラフィルムでシールした。

ミニカラムに 75 μl のスルファターゼ酵素液を加えた後、25℃で 18 時間静置し、グルコシノレートをデスルホ化した。

酵素処理後、ミニカラムの先端部のパラフィルムを外し、3 ml コレクションバイアルに挿入して、0.5 ml の蒸留水で 3 回カラムを洗浄し、デスルホグルコシノレートを溶出させた。調製した 1.5 ml デスルホグルコシノレート溶液を、HPLC で分析した。

4) HPLC 分析

グルコシノレートの測定は、シニグリンを内部標準とし、表 2 に示す条件により測定した。

個々のグルコシノレート含量および総グルコシノレート含量は、シニグリンの面積比と各グルコシノレートに対するレスポンスファクター (表 3) を用いて、次の計算式により算出した。

$$\text{個々のグルコシノレート含量} = (\text{個々のグルコシノレートのピーク面積} / \text{シニグリンのピーク面積}) \times (\text{シニグリン 0.2 ml 中のモル濃度} / \text{サンプル重量}) \times \text{レスポンスファクター}$$

表 2 グルコシノレート分析条件

装置	(株)島津製作所製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
検出波長	229 nm
カラム	COSMOSIL : 5 C ₁₈ -MS-II (4.6mmI.D.×150mm)
カラム温度	30℃
移動相	A液: 超純粋 B液: 20%アセトニトリル (v/v)
流量	1.5ml/min
グラジェント	0→21分 B液 1%, 21→24分 B液 99%, 29→39分 B液 1%

表 3 レスポンスファクター

NO	Desulfoglucosinolate names	Response factors
1	Desulfoglucosiberin	1.07
2	Desulfoprogoitrin	1.09
3	Desulfoepi-progoitrin	1.09
4	Desulfosinigrin	1.00
5	Desulfoglucoraphanin	1.07
6	Desulfoglucanapoleiferin	1.00
7	Desulfoglucosylsin	1.07
8	Desulfoglucanapin	1.11
9	Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin	0.28
10	Desulfoglucobrassicinapin	1.15
11	Desulfoglucotropaeolin	0.95
12	Desulfoglucobrassicin	0.29
13	Desulfoglucanasturtin	0.95
14	Desulfo-4-methoxyglucobrassicin	0.25
15	Desulfo-neoglucobrassicin	0.20
16	Other desulfoglucosinolates	1.00

2-4 香気成分の分析

グルコシノレートの供試材料調製に使用しなかった干したくあんでフードプロセッサー (National, 2M200) で粉碎し、2 g をバイアル瓶に入れた。30℃にインキュベートし、500 rpm でかくはんしながら SPME ファイバーをヘッドスペース中に 30 分間露出し揮発成分を吸着させた。ファイバーを GC/MS に挿入し揮発成分を、表 4 に示す条件により測定した。

表 4 香気成分分析条件

装置	Agilent製 7890A GC/5977MSD
カラム	DB-WAX (0.25 μm×0.25mm×60m)
SPME	50/30 μm DVB/CAR/PDMS Stableflex™/SS
気化室温度	230℃
カラム温度	70℃ (2分) 70→230℃ (2℃/分) 230℃ (20分)
キャリアガス	ヘリウム
流量	1.0 ml/min

3 結果および考察

3-1 干したくあんの重量変化

干したくあんの試作には品種および貯蔵期間別に 3 本の大根を使用した。品種別の生大根、14 日間天

日乾燥後および各貯蔵後の3本の平均重量を表5に示す。品種による大きな重量変化の違いはみられなかった。

表5 干したくあんの重量変化

	(g)	
	悠白	日向理想
生重量(葉付き)	1,359	1,397
14日間天日乾燥後	435	416
1ヶ月貯蔵後	244	255
3ヶ月貯蔵後	232	273
5ヶ月貯蔵後	262	291

3-2 外観の変化

2品種とも生の白さが、天日乾燥し貯蔵する間に変化した(図4)。天日乾燥後の変化は、2品種とも、天日と外気が影響したと考えられた。貯蔵後の変化は、「日向理想」は、グルコシノレートのグルコラファサチンを多く含むとされる先端の部分から黄変が進み(図5)、貯蔵5ヶ月には全体が黄変した。「悠白」は、「日向理想」のような黄変は起きなかったが、米ぬかの影響による着色を確認した。



図4 外観の経時変化



図5 1ヶ月貯蔵後の変化
 <左：日向理想 右：悠白>

図5 1ヶ月貯蔵後の変化

外観の変化をビジュアルアナライザーで数値化し主成分分析した結果を図6に示す。生から貯蔵5ヶ月の外観の変化は、経時変化の過程とそのポジショニングから、「悠白」と「日向理想」とほぼ同じであることを確認した。

干したくあんの試験では、「悠白」は大根の白さを保つことは困難と考えられた。

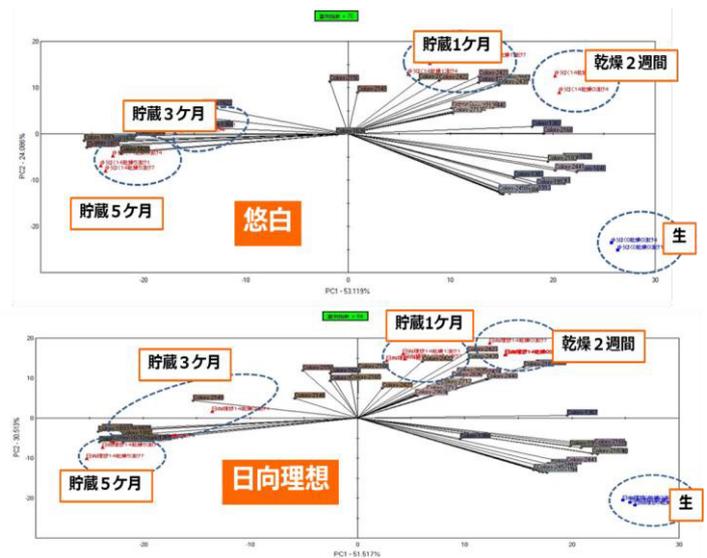


図6 外観の経時変化(主成分分析)

3-3 グルコシノレートの変化

「悠白」と「日向理想」のグルコシノレートは、「悠白」にはグルコエルシン、「日向理想」にはグルコラファサチンが含まれことを確認(表6)し、農研機構の分析結果⁶⁾と同じ傾向であった。

2品種のグルコシノレートの経時変化は図7に示すとおりで、生から天日乾燥で減少し、1ヶ月貯蔵ではほぼ消失した。

「日向理想」のグルコラファサチンは、黄変とたくあん臭に分解されたと思われる。「悠白」のグルコエルシンも何らかの物質に分解されたと思われる。

表6 グルコシノレート含量

品種	グルコシノレート含量 (μmol/g DW)	
	グルコエルシン	グルコラファサチン
悠白 (生)	15.82	0.00
日向理想 (生)	0.00	50.65

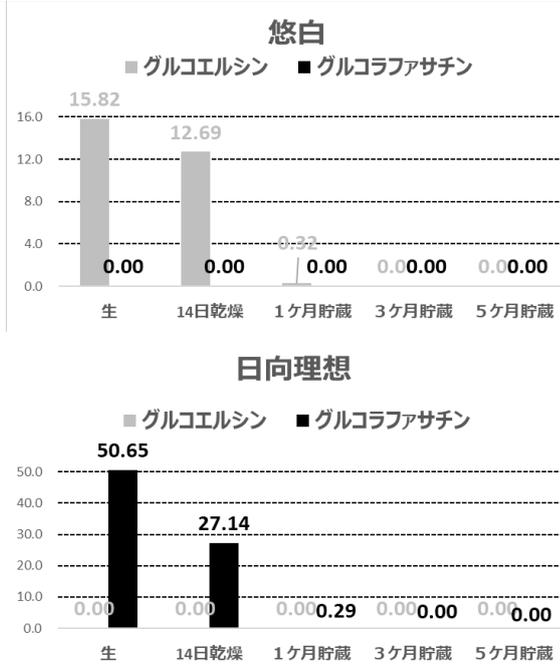


図7 グルコシノレートの経時変化

3-4 香気成分の変化

グルコシノレート由来の香気成分について、イソチオシアネート類は図8, 硫黄系は図9に示す。「悠白」には、グルコエルシン由来のキャベツのような臭いがするエルシンを確認したが、「日向理想」にはほとんど確認されず、また、グルコラファサチン由来のラファサチンもほとんど確認されなかった。「日向理想」では、硫黄系の香気成分でいわゆる「たくあん臭」と呼ばれるジメチルジスルフィド、ジメチルトリスルフィドを確認したが、「悠白」では、少量しか確認されなかった。2品種のグルコシノレート由来の香気成分は、成分は異なるが、貯蔵がすすむにつれ減少することが確認された。

貯蔵による発酵・代謝関連物質の香気成分に関して、図10, 図11および図12に示す。図10と図11の成分は、2品種とも経時変化とともに発生し増加する傾向であった。特にアルコール臭のエタノール、草様臭のヘキサナールおよびヨーグルト香のアセトインは、生では確認されなかったが、貯蔵がすすむにつれ増加する傾向であった。「日向理想」で発生した酢酸は、「悠白」では確認されなかった。

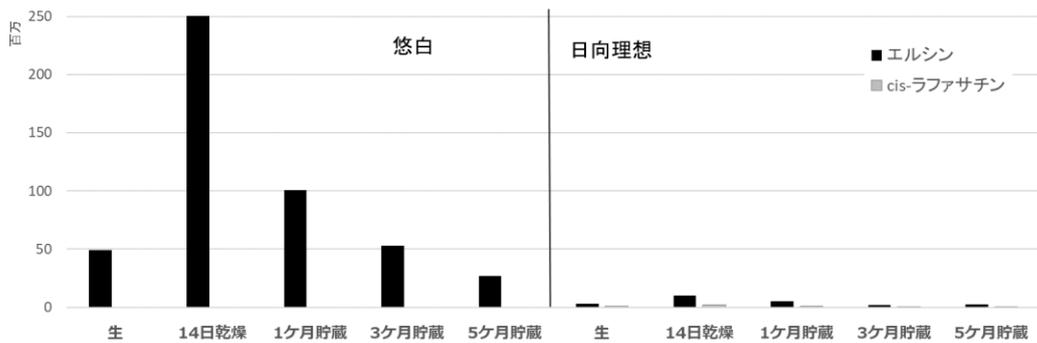


図8 グルコシノレート由来のイソチオシアネート類の香気成分

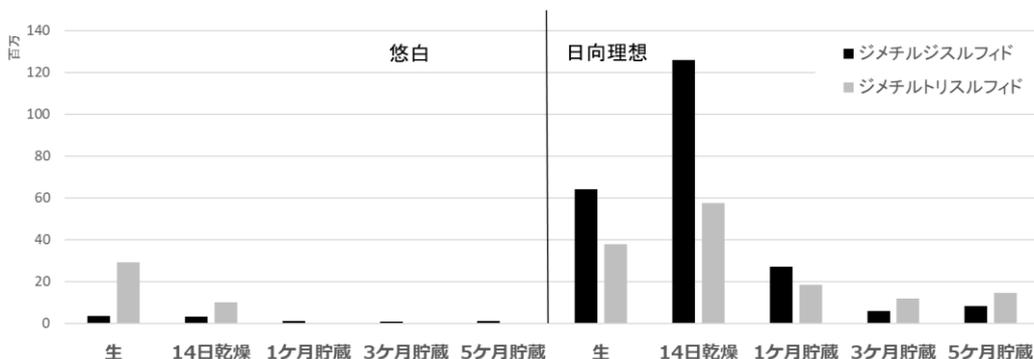


図9 グルコシノレート由来の硫黄系の香気成分

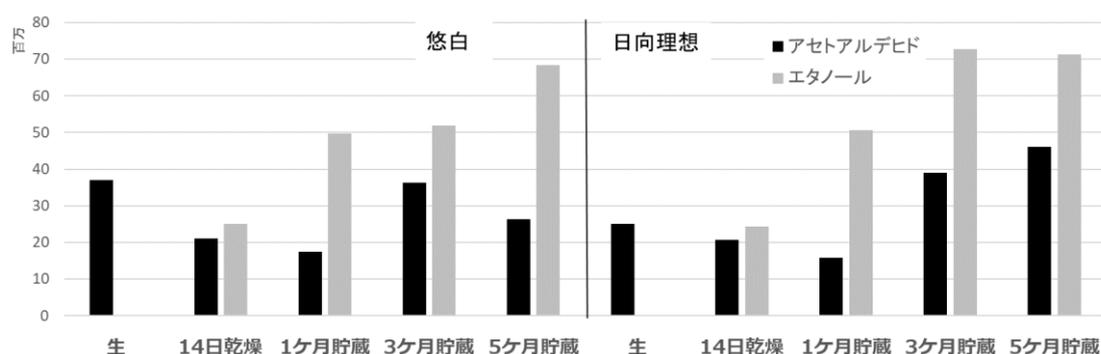


図 10 発酵・代謝関連物質の香気成分 (1)

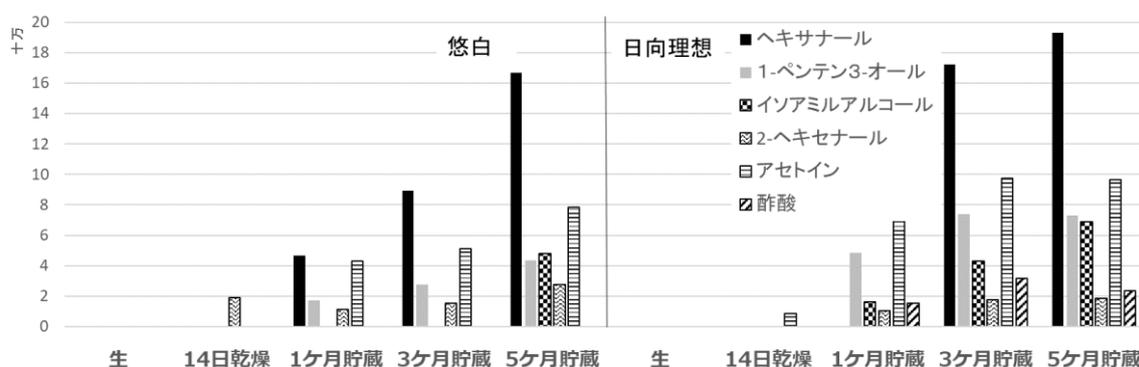


図 11 発酵・代謝関連物質の香気成分 (2)

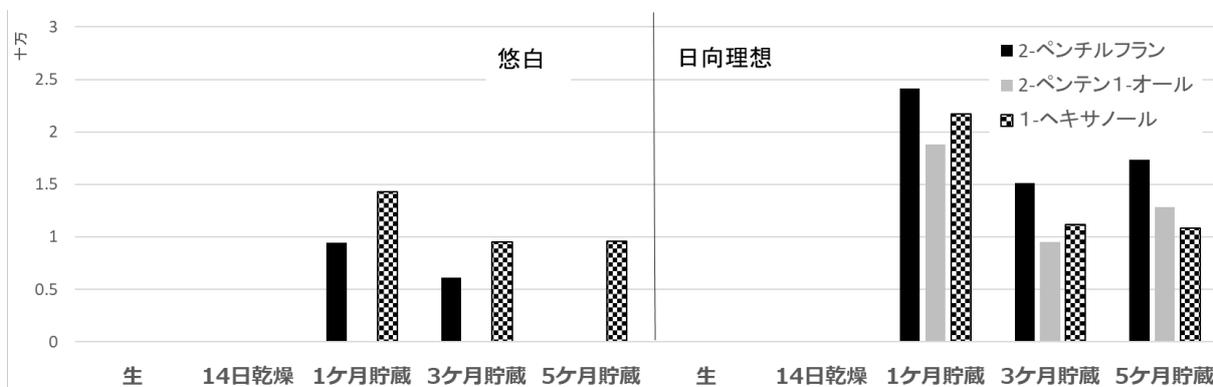


図 12 発酵・代謝関連物質の香気成分 (3)

図 12 に示す香気成分は、「日向理想」では、1ヶ月貯蔵でキャラメルの香りの2-ペンチルフラン、ゴム臭の2-ペンテン1-オールおよび草様の香りの1-ヘキサノールの発生を確認し、その後の貯蔵では増減する傾向であった。「悠白」では、1ヶ月貯蔵で2ペンチルフランおよび1-ヘキサノールが発生したがその後減少し、5ヶ月貯蔵で2-ペンチルフランは消失し、2-ペンテン1-オールの発生は確認しなかった。

「悠白」は「日向理想」と比べ、いわゆる「たくあん臭」であるジメチルスルフィド等の香気成分

は大幅に少ないが、発酵・代謝関連物質の香気成分が増えたことで、試作の干したくあんの香りを形成したと思われる。品種の違いが、発酵・代謝関連物質の一部の香気成分に関して発生と消失に影響を与えたと推察され、「悠白」と「日向理想」の干したくあんの香りの違いにも現れた。

4 まとめ

新品種加工用大根「悠白」の干したくあん加工適正を検討したところ、次のことがわかった。

- 1) 「悠白」を干したくあんに加工することで、外観が白から褐変そして米ぬか色に変化した。
- 2) 「悠白」のグルコシノレートの主な成分のグルコエルシンは、14日天日乾燥後に減少し、1ヶ月貯蔵でほとんど消失した。
- 3) 貯蔵中に「悠白」にも「日向理想」と同様に発酵・代謝関連物質に由来する香気成分が発生した。
- 4) 「悠白」は、干したくあんの原料でなく、グルコシノレートの辛味の特徴を生かして浅漬け等の原料に適すると思われる。
- 5) 長友絵美, 福山明子, 柚木崎千鶴子: 宮崎県食品開発センター研究報告, 54, 75-77(2009)
- 6) Tashiro et al., Food Sci. Technol. Res., 23, 757-763(2017)
- 7) 石田正彦, 森光康次郎: 農林水産技術研究ジャーナル 35-11, 32-36(2012)
- 8) 前田安彦: 漬物学, (株)幸書房, 255(2002)
- 9) 石田正彦: 「悠白」栽培と利用の手引き, 農業・食品産業技術総合研究機構野菜花き研究部門, (2018)
- 10) 岩城由子: 家庭でつくるこだわり食品, (社)農山漁村文化協会, 99-100(1989)
- 11) 食品機能性の科学編集委員会: 食品機能性の化学, (株)産業技術サービスセンター, 1099-1103(2008)

5 参考文献

- 1) 宮崎県: 宮崎の野菜 2020, 10(2020)

チョウザメに含まれる機能性成分含量調査*

松浦 靖*¹・湯浅 友識*²・永山 志穂*²・古市 佳代*²・高橋 克嘉*²・平川 良子*²

Investigation of the Content of Functional Ingredients in Sturgeon

Yasushi MATSUURA, Tomonori YUASA, Shiho NAGAYAMA, Kayo FURUICHI,
Katsuyoshi TAKAHASHI and Yoshiko HIRAKAWA

雄性シベリアチョウザメの可食部として利用される筋肉組織のフィレと非可食部である頭、ヒレ、骨、内臓および皮の5部位、合計6部位の機能性成分含量を調査した。各部位のタンパク質を塩酸加水分解し、アミノ酸一斉分析した結果、非可食部ではフィレに比べ、グリシン、プロリンおよびヒドロキシプロリンの割合が高かった。ヒドロキシプロリン含量からコラーゲン含量を求めた結果、皮やヒレで高かった。その他の機能性成分では、コンドロイチン硫酸含量も非可食部で高かった。また、抗疲労成分とされるカルノシン、β-アラニンなどはフィレで高かった。未利用部位は可食部の機能性成分組成と異なり、コラーゲンやコンドロイチン硫酸などの有用な機能性成分を豊富に含んでいることから、機能性成分の優れた供給源となり得ることがわかった。

1 はじめに

チョウザメは、北半球の湖沼や河川、沿岸域の浅海に分布し、タイやヒラメと同様、硬骨魚類に分類される¹⁾。チョウザメの卵は、塩漬けにされ、高級食材のキャビアとして流通している。

当県では、昭和58年に水産試験場でチョウザメ研究がスタートし、人工ふ化やシロチョウザメの完全養殖に成功した。現在ではキャビア生産のための養殖が県内各地で行われている。これまではシロチョウザメが主な養殖魚種であったが、近年では採卵までの期間の短いシベリアチョウザメやロシアチョウザメの養殖も行われている。チョウザメは3年程して雌雄が判別し、雌は採卵のため引き続き養殖されるものの、雄は食用として流通している。流通形態は、筋肉組織を三枚おろしにしたフィレが一般的に利用されるものの、その他部位は利用されずに廃棄されている。

水産資源の多くは、機能性成分を豊富に含むことから、QOL (Quality of Life) 改善を訴求した健康食品や化粧品などとして広く用いられている。当県の地域資源であるチョウザメも未利用部位の高付加価

値化が図られれば、QOL 改善素材となり得る可能性が高い。

そこで本研究では、雌雄判別後、食用として利用される雄性チョウザメ未利用部位の付加価値を高めることを目的として、筋肉組織であるフィレと比較しながら、未利用部位の機能性成分調査を実施したので報告する。

2 実験方法

2-1 供試材料

2019年1月に当県内で養殖された雄性シベリアチョウザメを3個体を用いた(表1)。即殺後はフィレを切り出し、その後、未利用部位の頭、ヒレ、骨、内臓および皮の5部位を非可食部として切り分け、-30℃で凍結保存した。各部位は、真空凍結乾燥装置(FTS SYSTEMS, Dura-Top MP & Dura Dry MP および日本テクノサービス(株), FD-10BU)を用いて乾燥物を調製した(表2)。乾燥物は、キッチンばさみで粗く切断した後、超遠心粉碎機(Retsch Co., Ltd, ZM200)で粉碎し、2mmスクリーンを通したものを供試試料とした。

2-2 粗タンパク質の定量

分解管に粉末試料0.2gを秤り取り、助剤と

* 食品廃棄物のリサイクルに関する研究

*1 食品開発部 (現 宮崎県環境森林部環境管理課)

*2 食品開発部

H₂SO₄ 10 mL を加え、分解装置で 2.5 時間加熱分解した。分解後はケルダール分析装置 (株) アクタック) で蒸留し、滴定により窒素量を求め、タンパク質換算係数 (6.25) を乗じて粗タンパク質量を算出した。

2-3 加水分解アミノ酸の定量

粉末試料 1 g に 0.02% β-メルカプトエタノール含有の 6N HCl 20 mL を分解管に加え、分解管にガラス管を付し、常圧下で 110°C に設定したブロックヒーターで 24 時間加熱した。加熱後は、蒸留水で希釈し、0.2 μm メンブランフィルターでろ過したものを高速アミノ酸分析計 (株) 日立製作所, L-8900 型) を用いて、ニンヒドリン発色法により測定した。

2-4 カルノシンおよび遊離アミノ酸の定量

粉末試料 1 g に 100°C の熱水 20 mL を加え、100°C に設定したブロックヒーターで加熱し、15 分間おきにかくはんしながら 1 時間加熱抽出した。抽出後は、蒸留水で 100 mL に定容し、その一部に対し 10% トリクロロ酢酸溶液を等量加え、振とうさせた。その後は、遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) を行い、除タンパクを行った。除タンパクされた試料溶液に等量のヘキサンを加え、脱脂したものを 0.2 μm メンブランフィルターでろ過し、試料溶液とした。アミノ酸一斉分析は、高速アミノ酸分析計を用いて、カルノシン、タウリンおよびβ-アラニンを定量した。

2-5 コンドロイチン硫酸の定量

林ら²⁾、中嶋³⁾の方法に準じて行った。すなわち、粉末試料 1 g を量り取り 50% NaOH 水溶液 100 mL を加え、45°C のウォーターバス中で 1 時間スターラーでかくはんした。かくはん後は、12 N HCl を用いて pH を中性にし、ケイソウ土 5 g を加え、スターラーで 1 時間かくはんして、不純物を除去した。その後、ガラスろ紙 (Whatman, GD/F) を用いて吸引ろ過し、清澄液を得た。蒸留水を用いて清澄液を 200 mL に定容し、10 mL を次の処理に用いた。分取した溶液 10 mL に濃度が 2 mol/L となるよう酢酸ナトリウムを加え、さらに 15 mL のエタノールを加え、振とうさせた後、1 時間静置した。その後、4°C で遠心分離 (8,000 rpm, 5 分間) した。沈殿物に、59% 酢酸ナトリウム水溶液 5 mL を加え、振とうさせた後、再度遠心分離し、リンス液をパスツールピペットで除去した。この操作を 2 回繰り返して行い、得られた沈殿物を蒸留水に溶解させ、10 mL に定容したものを比

色試験に供した。比色試験は、調製した試験溶液にカルバゾールエタノール溶液を加え 100°C で 25 分間加熱した。冷却後、発色したサンプルの吸光度値 (530 nm) を求め、D(+)-glucuronolactone を標準物質として作成した検量線により糖含量を算出した。コンドロイチン硫酸含量⁴⁾は、算出した糖含量に係数 2.593 を乗じて求めた。

2-6 部位間における機能性成分の相対比較

各部位における機能性成分含量を相対比較するため、以下の式により標準化処理を行った。

$$(\text{成分含量} - \text{平均値}) / \text{標準偏差} + 3$$

表 1 個体の体長および重量

個体	体長 (cm)	重量 (kg)
1	89	3.2
2	88	2.7
3	90	3.1

表 2 各部位の乾燥物重量と割合

部位	乾燥物 (g)	割合 (%)
頭	146.1 ± 17.5	16.7
ヒレ	115.6 ± 12.9	13.2
骨	99.9 ± 9.2	11.4
内臓	43.5 ± 2.2	5.0
皮	144.0 ± 44.0	16.5
フィレ	324.5 ± 33.8	37.2

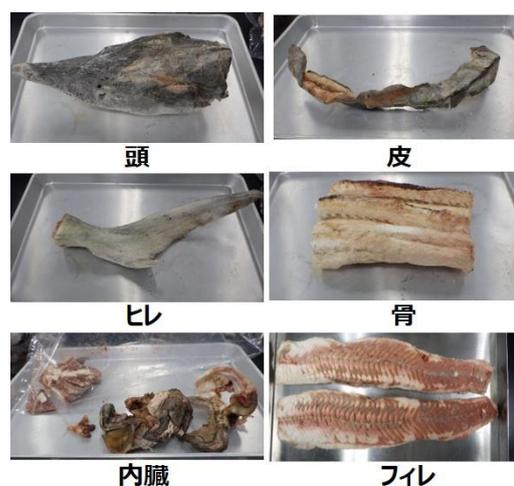


図 1 凍結乾燥した各部位の試料

3 結果および考察

3-1 粗タンパク質および加水分解アミノ酸

各部位の粗タンパク質および加水分解アミノ酸を

測定した結果を表3に示す。粗タンパク質含量は387～558 mg/g (平均値 474) で、ヒレで最も高く、次いでフィレの順であった。非可食部の頭、骨はそれぞれ 401, 387 mg/g であり、他の部位と比較して、やや低かった。

次に、タンパク質を塩酸加水分解し、メチオニン、システインおよびトリプトファンを除くアミノ酸を測定した結果を示す(表3)。アミノ酸含量は、部位間でやや差が認められるものの、多くのアミノ酸において、フィレ中の含量が高かった。その中で、分岐鎖アミノ酸(BCAA)であるイソロイシン、ロイシンおよびバリンは、骨格筋タンパク質の合成促進や分解抑制効果を有する⁵⁾とされているが、これらもフィレで高く、その他の部位間では大きな差はなかった。

一方、フィレに比べ非可食部で高かったアミノ酸は、グリシン、プロリンおよびヒドロキシプロリンであった。コラーゲンは、構成アミノ酸としてグリシンを最も多く含み、次いでプロリン、ヒドロキシプロリンの順に多い⁶⁾とされ、特にヒドロキシプロリンはコラーゲンに特異的に含まれる。そこで、

Woessner 法⁷⁾を用いて、各部位のヒドロキシプロリン含量に換算係数(筋肉:9.8, 骨など9.7)を乗じてコラーゲン含量を求めた結果、85～202 mg/g (平均値 138)であり、皮で最も高く、ヒレ、頭、内臓、骨、フィレの順であった(表4)。谷口らは、シロチョウザメの筋肉および脊椎骨のコラーゲン含量はそれぞれ乾燥重量あたり 2.42～2.78%, 33.8～40.8%であった⁸⁾と報告している。今回の調査でも骨を含む非可食部でコラーゲン含量が高い結果を示した。本調査では、谷口らの報告よりもコラーゲン含量が低い結果を示したが、各部位で筋肉組織の付着等もあったことから、低値を示したものと考えられた。

3-2 コンドロイチン硫酸

各部位のコンドロイチン硫酸を測定した結果、0.3～3.9 mg/g (平均値 2.0)で、頭が最も高く、次いで皮、内臓、ヒレ、骨、フィレの順であった(表4)。コンドロイチン硫酸は、ほとんどの動物に存在し、動物における結合組織の細胞外マトリックスの一分成分であり、魚介類非可食部で豊富である⁹⁾と報告され、本調査結果においても、コンドロイチン硫酸含量は非可食部に多く含まれていた。

表3 各部位の粗タンパク質および加水分解アミノ酸含量

アミノ酸 (mg/g dry wt.)	各部位					
	頭	ヒレ	骨	内臓	皮	フィレ
粗タンパク質	401±36	558±48	387±50	478±86	495±59	526±37
イソロイシン	8.6±0.4	11.9±0.3	11.7±0.8	11.1± 0.4	8.1± 0.7	18.5±0.8
ロイシン	15.7±0.7	21.3±0.7	21.4±1.4	20.5± 0.5	14.1± 1.3	33.2±1.6
リジン	14.6±0.8	21.3±0.9	20.2±1.5	19.3± 0.9	15.6± 1.5	34.0±1.6
フェニルアラニン	7.6±0.4	10.4±0.3	9.2±0.6	10.1± 0.7	7.9± 0.9	14.0±0.7
チロシン	3.7±0.1	6.0±0.2	5.8±0.4	5.4± 0.2	3.6± 0.4	9.6±0.5
スレオニン	12.2±0.5	16.4±0.6	14.3±0.9	16.8± 1.4	12.9± 1.4	20.2±0.9
バリン	12.4±0.6	16.0±0.4	15.4±1.1	16.2± 0.7	11.5± 1.0	22.5±0.8
ヒスチジン	4.7±0.2	6.8±0.6	7.7±0.8	6.9± 0.4	5.3± 0.3	12.7±0.3
アルギニン	17.0±0.6	22.8±0.8	15.9±0.9	20.2± 4.8	27.8± 1.9	19.2±0.8
アラニン	34.3±1.3	45.1±1.6	29.7±1.6	41.9±10.9	44.4± 4.6	34.7±1.5
アスパラギン酸	23.9±0.9	32.4±1.1	28.0±1.8	28.7± 2.7	25.0± 2.8	40.6±2.0
グルタミン酸	33.4±1.2	44.5±1.3	38.2±2.2	37.5± 4.4	34.0± 3.6	52.9±2.7
グリシン	90.8±2.2	113.2±4.7	57.5±3.0	89.8±34.5	122.1±13.2	39.3±2.0
プロリン	31.0±1.1	37.5±1.9	21.9±0.9	29.4± 8.8	39.1± 4.9	17.1±0.7
セリン	19.8±0.7	26.4±1.1	18.2±1.0	24.7± 4.0	23.6± 2.4	23.2±1.1
ヒドロキシプロリン	16.7±1.3	19.9±0.8	8.8±0.2	16.5± 7.9	20.8± 1.6	2.7±0.1
アンモニア	37.7±0.6	37.5±2.1	39.3±1.2	40.3± 2.8	36.4± 1.3	45.9±1.4

平均値±標準偏差 (n=3)

表 4 各部位に含まれる機能性成分含量

成分 (mg/g dry wt.)	各部位					
	頭	ヒレ	骨	内臓	皮	フィレ
コラーゲン*	162±13	193± 8	85± 2	160±77	202±16	27± 1
コンドロイチン硫酸	3.9±2.0	2.1±0.5	3.0±1.5	2.2±1.0	0.4±0.1	0.3±0.1
カルノシン	0.7±0.1	2.8±0.7	3.9±0.6	0.1±0.0	0.2±0.1	12.0±0.1
タウリン	1.6±0.2	2.1±0.0	1.2±0.2	5.5±0.3	1.4±0.2	2.1±0.1
β-アラニン	0.6±0.1	1.1±0.3	1.5±0.2	0.3±0.0	1.3±0.0	2.7±0.1

平均値±標準偏差 (n=3)

*: コラーゲン含量については、表 3 に示すヒドロキシプロリン含量に係数を乗じて算出した。

GUIらは、チョウザメの頭蓋骨および背骨からコンドロイチン硫酸を抽出し、化学的特性および抗血栓効果¹⁰⁾を明らかにしている。このことから、チョウザメ非可食部は、コンドロイチン硫酸の優れた供給源になると考えられた。

3-3 カルノシンおよび遊離アミノ酸

各部位のカルノシンおよび一部の機能性遊離アミノ酸含量を表 4 に示した。カルノシン含量は 0.1~12.0 mg/g (平均値 3.3) で、可食部のフィレが最も高かった。非可食部では骨の 3.9 mg/g が最も高いものの、可食部に比べると、ほとんどの非可食部で低かった。一般的にカルノシンなどのイミダゾールジペプチドは、筋肉中に高濃度存在する¹¹⁾とされ、本調査でも筋肉中に多く、非可食部では低かった。

なお、魚類ではアンセリンが一般的に多く含まれる¹²⁾が、チョウザメではカルノシンを多く含み、アンセリン、バレニンといったイミダゾールジペプチドは含まれていなかった。

次に、抗疲労に係る機能性遊離アミノ酸としてβ-アラニンおよびタウリンについても評価した。

β-アラニン含量は、0.3~2.7 mg/g (平均値 1.2) で、フィレが最も高値を示した。非可食部では骨が最も高く、次いで皮の順であった。

タウリン含量は 1.2~5.5 mg/g (平均値 2.3) で、内臓が最も高く、次いでフィレの順であった。内臓を除く部位間では含量に大きな違いは認められなかった。

3-4 各部位における機能性成分の相対比較

各部位に含まれる機能性成分データを標準化処理データに変換し、相対比較を行った結果を図 2 に示す。非可食部である各部位とフィレの構成パターン

は明確に異なった。非可食部は、骨、軟骨、結合組織などからなり、本調査結果においてもコラーゲンやコンドロイチン硫酸含量が高いことが確認できた。チョウザメ非可食部は、未利用資源として、コラーゲンやコンドロイチン硫酸を主な機能性成分としつつも、フィレに含まれる抗疲労成分も含んでいることが特徴であり、QOL 改善に有効と考えられた。

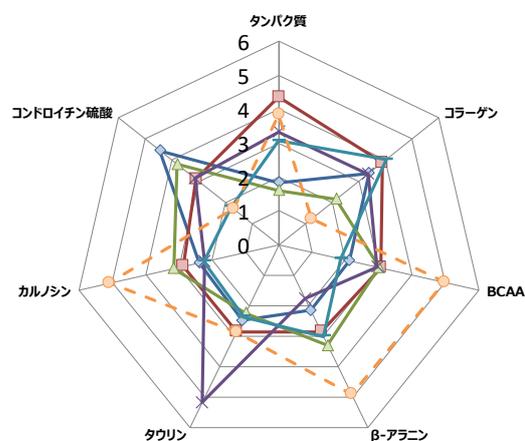


図 2 各部位に含まれる機能性成分の相対比較

◇:頭, □:ヒレ, △:骨, ×:内臓, -.:皮, ●:フィレ

4 まとめ

雄性シベリアチョウザメからフィレと非可食部である頭、ヒレ、骨、内臓および皮の 6 部位を切り出し、各部位に含まれる機能性成分含量を調査した結果、非可食部は、フィレに比べコラーゲンやコンドロイチン硫酸含量が高かった。なお、フィレに多く含まれるカルノシンなどの抗疲労成分も含まれていることから、チョウザメ未利用部位は機能性成分の優れた供給源となり得ることがわかった。

今後は、産業利用にあたり、加工方法や安定した原料供給体制の確立など、地域資源の活用につながる取組を進めていく必要がある。

5 参考文献

- 1) 福田芳生：THE CHEMICAL TIMES, **227**, 12-18 (2013)
- 2) 谷口基, 田口智也, 水田尚志：平成 19 年度宮崎県水産試験場事業報告書 (2020)
- 3) 中嶋昭正：Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **38**, 621-626 (1972)
- 4) 工藤重光, 伊藤聖子, 吉原秀一, 加藤陽治：食品科学工学会誌, **58**, 542-547 (2011)
- 5) 濱田広一郎：体力科学, **56**, 55 (2007)
- 6) 伊藤孝, 坂奥喜一郎：繊維学会誌, **39**, 364-373 (1983)
- 7) Woessner, JF. : Archives of Biochemistry and Biophysics, **93**, 440-447 (1961)
- 8) 林悠真, 長野昌子, 赤嶺そのみ, 岸上和男, 村上陽太郎, 大村裕治：平成 30 年度宮崎県水産試験場事業報告書, 205-211 (2020)
- 9) 田村純一：化学と生物, **54**, 372-374 (2016)
- 10) GUI, M., SONG, J., ZHANG, L., WANG, S., WU, R., MA, C., LI, P. : Carbohydrate Polymers, **123**, 454-460 (2015)
- 11) 常石英作：食品科学工学会誌, **53**, 362-363 (2006)
- 12) 阿部宏喜：化学と生物, **23**, 809-815 (1985)

新しい加工用米（宮崎 52 号）を用いた芋焼酎試験醸造（第 2 報）

山本 英樹*1・山田 和史*1・水谷 政美*1
祝園 秀樹*1・福良 奈津子*1・喜田 珠光*1

The Examination Brewing of Sweet Potato *Shochu* Using New Rice for Processing, "Miyazaki 52" (Part2)

Hideki YAMAMOTO, Kazufumi YAMADA, Masami MIZUTANI,
Hideki IWAIZONO, Natsuko FUKURA and Tamami KIDA

早期加工用米宮崎 52 号の焼酎用麴米としての適性を把握するために、前報¹⁾に引き続き芋焼酎の工場規模試験醸造、試験醸造焼酎の成分分析および官能評価を行った。宮崎 52 号の製麴は概ね順調であったが、蒸し後に塊が多く、粘りがあり、さばけも悪かった。盛りの際にも大きな塊が多くみられた。しかし、製麴の温度推移は良好で、出麴ではわずかに小さな塊があったものの、ハゼ廻り、ハゼ込みの良い、優良な麴を製造できた。芋焼酎製造における一次および二次もろみの発酵経過も順調であった。芋焼酎の一般成分（pH、酸度、紫外部吸収）も良好で、主要香气成分（アルコール類、エステル類）および特徴香微量成分（モノテルペンアルコール、 β -ダマセノン）も十分量含有していた。宮崎 52 号製芋焼酎は、官能検査の評価は良好で、「原料特性がある」、「甘味がある」、「香ばしい」、「旨みがある」等のコメントが得られて品質は高かった。しかし、製麴で、加工用米の蒸し後の種付け時に塊が多く、粘りが強く、さばけが悪いことが課題であると考えられた。

1 はじめに

宮崎県には 37 の本格焼酎メーカーがあり、本県の 2019 酒造年度における本格焼酎の出荷量は 12 万 3974kL で、都道府県別で 6 年連続一位であった。

また、平成 30 年焼酎出荷金額は 1,046 億円で、焼酎産業は本県屈指の主要産業である。宮崎の本格焼酎には芋、麦、米、そば等の多様な原料が用いられ個性豊かである。近年は消費者の嗜好性の変化に伴い、本県の焼酎全体における芋焼酎の出荷割合が 84%を超えている。

芋焼酎の製造では主に麴原料として米を使用している。麴に含まれる酵素やクエン酸がもろみに供給されることで良好なアルコール発酵および様々な香味成分の生成を促進するため、麴の品質が焼酎の酒質や生産量に大きく影響する。それ故に、麴原料となる加工用米の品質と量の確保は、メーカーにとって重要である。

近年、本県の加工用米需要に対応するために、関

係機関、焼酎メーカー、生産者および団体等で構成された「宮崎県加工用米等生産・利用拡大推進協議会」が、普通期栽培の収量の高い新しい加工用米み系 358 の栽培試験、焼酎試験醸造²⁻⁴⁾および普及に取り組んできた。み系 358 は県総合農業試験場が育成した品種であり、極多収、いもち病に強い、短稈で倒伏に強い、大粒でアミロース含有率がやや高い、玄米千粒重が大きく主食用品種との識別が容易等の特徴を持ち、焼酎の麴原料として好適である。しかし、み系 358 の収穫時期はおよそ 10 月下旬であり、新米が芋焼酎製造の最盛期に間に合わないことが課題である。さらに、主要な早期栽培の加工用米であった夏の笑みが、平成 27 年にいもち病の多発により大幅な減収となったので、夏の笑みと収量が同等以上でいもち病に強い品種である宮崎 52 号の実用化への取り組みが開始された。

本報では、前報¹⁾に引き続き宮崎 52 号を用いた芋焼酎の工場規模試験醸造を行い、焼酎用麴米としての醸造適性評価を行ったので報告する。

*1 応用微生物部

2 実験方法

2-1 供試米

県内で栽培された加工用米宮崎 52 号の新米を麴米として使用し、有限会社渡邊酒造場において芋焼酎の工場規模試験醸造を実施した。

2-2 芋焼酎工場規模試験醸造

製麴には宮崎 52 号の精白した新米 1,600 kg を用いた。対照として、夏の笑みを使用した。浸漬は水温 22℃で 25 分間、水切りは 80 分間行い、その後蒸しを行った。種麴は河内白麴菌 (*Aspergillus kawachii*) または河内黒麴菌 (*Aspergillus luchuensis*) を使用し、ドラム製麴機で 40 時間かけて製麴を行った。一次もろみでは宮崎酵母 (MK021) を使用して約 1 週間発酵させた。さらに、主原料のコガネセンガン 2,000 kg ずつを 4 回蒸して、熟成一次もろみを 4 分割したものにそれぞれ加えて二次もろみとし 9 日間発酵させた。熟成二次もろみを 2 仕込みずつ合わせて常圧蒸留し芋焼酎の原酒を得た。

2-3 芋焼酎の成分分析

分析に供した芋焼酎は、原酒を 28% (v/v) に和水分して調製した。芋焼酎の pH、酸度、紫外吸収、アルコール分および芋焼酎熟成二次もろみのアルコール分の分析は、国税庁所定分析法⁵⁾に従った。芋焼酎の一般香気成分の分析はガスクロマトグラフ (島津製作所製 GC2010 Plus) を用いてヘッドスペース法にて、モノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノンについてはガスクロマトグラフ質量分析計 (島津製作所製 GCMS-QP2010 Plus) を用いて行った。なお、芋焼酎のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン測定試料の調製は、ヘッドスペース固相マイクロ抽出 (Solid Phase Micro Extraction: SPME) 法⁶⁻⁹⁾で行った。芋焼酎 5 mL および内部標準溶液(1-ペンタノール 250 mg/L) 0.1 mL を 20 mL 容ガラスバイアルに入れて密栓し、オートインジェクター (島津製作所製 AOC-5000) を用いて 40℃、500 rpm で攪拌しながら 5 分加温した後、SPME ファイバー (SUPELCO 85 μm ポリアクリレート) を露出して 30 分間攪拌しながら抽出した。脱離は SPME ファイバーを分析装置の注入口内で 230℃、5 分間露出して行った。

2-4 芋焼酎の官能評価

焼酎官能評価経験者 7 名をパネリストとして 4 点法 (1: 秀, 2: 優, 3: 良, 4: 可) により芋焼酎の官能評価を行った。

3 結果および考察

3-1 芋焼酎工場規模試験醸造

県産加工用米宮崎 52 号を麴米として使用し、製麴を行った。表 1 に製麴に関する製造者の所見を示した。蒸し上がり時はかなり塊が多かった。粘りもやや強く、ほぐすのに時間を要した。蒸米自体は蒸しムラもなく良好だった。16 時間経過後の盛りの際にも大きな塊が多くみられた。ただ塊自体は簡単にほぐせる硬さであった。製麴の温度推移は良好であった。出麴では若干小さな塊があったものの、ハゼ廻り、ハゼ込みも良く、優良な麴を製造できたと判断された。出麴酸度は夏の笑みとほぼ変わらなかった。その後の経過も大きな差は見られなかった。ただ、浸漬や水切りを調整しても強めの粘りは変わらないと推測されるので、ドラムでの製麴には困難を伴うと判断された。

図 1 に宮崎 52 号製および対照の夏の笑み製の米麴の外観を示した。これらの麴の酸度は、宮崎 52 号製 (白麴) が 6.3、宮崎 52 号製 (黒麴) が 6.7、夏の笑み製 (白麴) が 6.4、夏の笑み製 (黒麴) が 6.5 で全て適正な値であった。

表 2 に芋焼酎の仕込み歩合を示した。宮崎 52 号製および夏の笑み製の白麴および黒麴ともに、一次もろみ、二次もろみにおける発酵および蒸留は順調に行われた。

芋焼酎製造の発酵管理に関する値を表 3 に示した。熟成二次もろみアルコール分は 14.1~14.3 % であり、発酵性に差は認められなかった。また、純アルコール取得量についても、207~214 L/t でほぼ同等であった。さらに、蒸留歩合は 94.5~96.8 % であり、いずれの蒸留も適切に行われたことが分かった。

宮崎 52 号製の製麴では作業上の問題があったものの、塊を十分にほぐすことにより良質の麴が得られ、その後の発酵および蒸留が順調であったと考えられた。

表1 製麴に関する製造者の所見

項目	所見
蒸しの状況	<p>浸漬 25 分 (水温 22℃) ・水切り 80 分で蒸した結果、蒸し上がり時はかなり塊が多かった。粘りもやや強く、ほぐすのに時間を要した。蒸米自体は蒸しムラもなく良好だった。</p>
出麴の状況	<p>16 時間経過後の盛りの際にも大きな塊が多製麴のし易さくみられた。ただ塊自体は簡単にほぐせる硬さであった。</p>
総合評価	<p>温度推移は良好、香りも良い。ほんの少し小さな塊があったが、ハゼ廻り、ハゼ込みも良かった。少々ハゼ落ちがあった。</p> <p>出麴酸度は夏の笑みとほぼ変わらなかった。その後の経過も大きな差は見られなかった。ただ、浸漬や水切りを調整しても強めの粘りは変わらないと考えられるので、ドラムでの製麴にはあまりおすすめできない。</p>

表2 芋焼酎の仕込み歩合

原料	一次	二次 (4 仕込みに分割)	計
麴米(kg)	1,600	—	1,600
コガネセンガン(kg)	—	2,000×4	8,000
汲水(L)	1,920	1,250×4	6,920

麴歩合 20%，汲水歩合 72%.

表3 芋焼酎の発酵管理に関する値

	宮崎 52 号製 (白麴)	宮崎 52 号製 (黒麴)	夏の 笑み製 (白麴)	夏の 笑み製 (黒麴)
熟成二次もろみ アルコール分 (%)	14.2	14.2	14.1	14.3
焼酎原酒 アルコール分 (%)	39.2	36.9	38.1	37.5
純アルコール 収得量 (L / t)	214	210	207	210
蒸留歩合 (%)	96.8	94.5	94.6	94.8



宮崎 52 号の米麴 (白麴)



夏の笑みの米麴 (白麴)



宮崎 52 号の米麴 (黒麴)



夏の笑みの米麴 (黒麴)

図1 米麴の外観

3-2 芋焼酎の成分分析

表4に芋焼酎の一般成分を示した。いずれも麴米の種類による大きな差異は認められず、もろみの発酵および性状について問題はないと推察された。

表4 芋焼酎28度の一般成分

	pH	焼酎酸度	紫外部 吸収
宮崎52号製(白麴)	5.0	0.7	1.062
宮崎52号製(黒麴)	5.1	0.9	1.330
夏の笑み製(白麴)	4.9	0.9	1.165
夏の笑み製(黒麴)	4.9	0.9	1.343

表5に芋焼酎に含まれる主要香気成分のアルコール類およびエステル類の濃度等を示した。それぞれの成分について大きな違いは見られず、宮崎52号製芋焼酎は主要な香気成分を十分含有することが分かった。

表6に芋焼酎のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度を示した。これらについて、宮崎52号製芋焼酎は対照の夏の笑み製と同等に十分に含有することが分かった。

モノテルペンアルコールは芋焼酎の特徴香成分であると報告されている。甘藷中には糖が結合したモノテルペン配糖体が存在し、もろみ中で麴由来のβ-グルコシダーゼで加水分解され、ゲラニオールとネロールが遊離する。一部は、蒸留工程の熱ともろみ

表5 芋焼酎28度の主要な香気成分濃度および高級アルコール比

	宮崎52号製 (白麴)	宮崎52号製 (黒麴)	夏の笑み製 (白麴)	夏の笑み製 (黒麴)
酢酸エチル	134	144	138	120
ジアセチル	0.8	1.2	0.8	1.2
n-プロピルアルコール	131	131	129	123
i-ブチルアルコール	217	192	196	210
酢酸i-アミル	10.2	11.3	8.6	10.6
i-アミルアルコール	520	473	472	494
カプロン酸エチル	0.3	0.4	0.3	0.3
アセトイン	N.D.	N.D.	1.2	N.D.
カプリル酸エチル	1.7	1.9	1.6	1.9
カプリン酸エチル	3.5	2.5	2.3	3.1
酢酸β-フェネチル	2.7	2.8	2.6	3.6
β-フェネチルアルコール	93	76	97	92
A/P	4.0	3.6	3.7	4.0
A/B	2.4	2.5	2.4	2.4
B/P	1.7	1.5	1.5	1.7
A/(P+B)	1.5	1.5	1.5	1.5

注) P: n-プロピルアルコール, B: i-ブチルアルコール, A: i-アミルアルコール

表6 芋焼酎28度のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度

	(μg/L)			
	宮崎 52号製 (白麴)	宮崎 52号製 (黒麴)	夏の 笑み製 (白麴)	夏の 笑み製 (黒麴)
リナロール	73	142	94	154
α-テルピネオール	77	123	79	128
シトロネロール	58	156	84	184
ネロール	42	105	53	128
ゲラニオール	100	134	89	158
β-ダマセノン	25	18	17	30

中の酸でリナロールやα-テルピネオールに変換され、また、酵母によりシトロネロールに変換される^{10,11)}。β-ダマセノンは芋焼酎に含まれる温かみのある甘い香りの特徴香成分であり、芋焼酎の風味に寄与する¹²⁾。

本試験醸造では、黒麴製芋焼酎は白麴製に比較してモノテルペンアルコール濃度が高かった。これは、黒麴が白麴に比較してモノテルペンアルコールの生成に関与するβ-グルコシダーゼ等の酵素の含有量が多かったことによるものと推察された。

もろみの発酵が良好であり、焼酎に十分な香氣成分が含有されていたことから、宮崎52号を用いた

場合も麹菌の酵素およびクエン酸生成等について問題ないと推察された。

3-3 芋焼酎の官能評価

表7に芋焼酎の官能検査結果を示した。宮崎52号製(白麴)、(黒麴)芋焼酎の平均点はそれぞれ2.0であり、対照の夏の笑み製(白麴)の2.0および(黒麴)2.4と比較して同等以上の良好な評価であった。「原料特性がある」、「甘味がある」、「香ばしい」、「旨みがある」等のコメントが得られ、焼酎の品質が高いことが分かった。

4 まとめ

1. 宮崎52号の製麴は概ね順調であったが、蒸し後に塊が多く、粘りがあり、さばけも悪かった。
2. 宮崎52号を用いた芋焼酎の熟成二次もろみアルコール分および純アルコール取得量は良好であった。
3. 宮崎52号製芋焼酎は夏の笑み製と比較して一般成分および香氣成分に顕著な差は認められなかった。
4. 官能検査において、宮崎52号製芋焼酎は原料特性がある、甘い、香ばしい、旨みがある等の良好なコメントが得られ、夏の笑み製と比較して同等の評価であった。

表7 芋焼酎28度の官能検査結果

※4点法(1:秀, 2:優, 3:良, 4:可)

製品	平均	コメント
宮崎52号製 (白麴)	2.0	原料特性(6), 甘い(4), 香ばしい(3), 旨みある(3), なめらか(2) コゲ臭(3), ガス臭(2), 辛い(2), 渋味(2), 苦味(2), 油臭
宮崎52号製 (黒麴)	2.0	原料特性(4), 甘い(4), 旨みある(3), エステル香(2), おだやか(2), 香ばしい, きれい, 油香 苦味(2), ガス臭, 油臭, 未だれ臭, 辛い, 渋味, 石鹼臭
夏の笑み製 (白麴)	2.0	甘い(3), 原料特性(2), 旨みある(2), エステル香, おだやか, 柑橘香, 油香 辛い(3), 渋味(2), 酸臭, コゲ臭
夏の笑み製 (黒麴)	2.4	原料特性(4), 甘い(4), 旨みある(3), エステル香, 香ばしい, おだやか, なめらか, 甘焦げ臭 油臭(3), 辛い(2), 荒い(2), 渋味(2), コゲ臭, 石鹼臭

※ 7名の焼酎官能評価経験者で検査を行った。()内の数は、コメントした審査員数。

以上より,新しい加工用米宮崎 52 号を焼酎用麴米として用いた試験醸造におけるもろみの発酵性,芋焼酎の品質は良好であることが認められた.しかし,製麴において,加工用米の蒸し後の種付け時に塊が多く,粘りが強く,さばけが悪いことが,作業上支障となることが分かった.今後,工場規模試験醸造を継続して実施し,浸漬,水切り,蒸し等の条件を改善し,作業性を高める必要があると考える.

5 参考文献

- 1) 山本英樹,山田和史,水谷政美,祝園秀樹,福良奈津子,藤田依里,喜田珠光:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告・平成30年度<63号>,53-59(2018)
- 2) 山本英樹,水谷政美,山田和史,祝園秀樹,高山清子:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告・平成26年度<59号>,53-58(2014)
- 3) 山本英樹,水谷政美,祝園秀樹,高山清子,藤田依里:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告・平成27年度<60号>,51-55(2015)
- 4) 山本英樹,水谷政美,祝園秀樹,高山清子,藤田依里,喜田珠光:宮崎県工業技術センター・

食品開発センター研究報告・平成28年度<61号>,69-75(2016)

- 5) 注解編集委員会編:第四回改正国税庁所定分析法注解(公益財団法人日本醸造協会,東京),34-49(2000)
- 6) 宇都宮仁:醸協,94-3,252-257(1999)
- 7) 宇都宮仁,木田信,牧則光,磯谷敦子,岩田博,西谷尚道:醸協,101-6,446-457(2006)
- 8) 福田央,小林健,坂本和俊,水谷治,金井宗良,平松順一:酒類総合研究所報告,183,16-25(2011)
- 9) 下田満哉:ぶんせき, No.2, 75-79(2002)
- 10) 太田剛雄:醸協,86-4,250-254(1991)
- 11) 高峯和則,吉崎由美子,島田翔吾,高屋総一郎,玉置尚徳,伊藤清,鮫島吉廣:醸協,106-1,50-57(2011)
- 12) 神渡巧,瀬戸口眞治,上田次郎,瀬戸口智子,緒方新一郎:醸協,101-6,437-445(2006)

6 おわりに

本研究における芋焼酎の工場規模試験醸造は,有限会社渡邊酒造場の協力により行われた.また,本試験は,宮崎県加工用米等生産・利用拡大推進協議会の支援の下,企画,実施した.

研究報 文

宮崎県における醤油もろみ中のヒスタミンの状況とその低減に 有効な乳酸菌スターターの選抜

高山 清子¹ 福良 奈津子¹, 山本 英樹¹, 水谷 政美¹, 岩佐 達也², 児玉 崇², 吉田 秀恵²
(¹宮崎県食品開発センター, ²ヤマエ食品工業株式会社)

(令和元年 6 月24日受理)

Investigation of Soy Sauce Mash in Miyazaki Prefecture and Screening of Halophilic Lactic Acid Bacterium Starter which is Effective for Histamine Reduction.

Kiyoko Takayama, Natsuko Fukura, Hideki Yamamoto, Masami Mizutani, Tatsuya Iwasa,
Takashi Kodama, Hidetsugu Yoshida

(¹Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center
²Yamae Food Products Co., Ltd.)

宮崎県の醤油製造場10社中 8 社でヒスタミンが検出された。醤油もろみ59検体から218株を分離し、ヒスタミン非産生で凝集性を有する乳酸菌を選抜した。小仕込み試験を行ったところ、乳酸菌を添加した 7 試験区全てにおいてヒスタミンの生成が抑制されていた。また、菌株によってアミノ酸の代謝に違いがみられた。生揚げの官能評価においては、アミノ酸を代謝せず、pHの低下が緩やかなMS0204 株を添加した生揚げの評価が最も高く、優良な醤油乳酸菌として選抜した。

緒 言

「和食；日本人の伝統的な食文化」がユネスコ無形文化遺産に登録され、伝統的な発酵食品である醤油の海外における消費拡大が期待されている。宮崎県においては、古くから醸造の町として栄えた日南市大堂津¹⁾をはじめ、県内17社中10社で自家製もろみを造っており、他県に比べると一貫製造の工場が多いという特徴がある。また、もろみタンクは、木桶やコンクリート、FRP製と様々であり、乳酸菌や酵母を添加せず、蔵付きの微生物に頼った醤油製造を行っている。

一方、アレルギー様症状を引き起こすヒスタミンに関しては、発酵食品中での蓄積が問題となっている。醤油製造においては、野生乳酸菌 *Tetragenococcus*

halophilus (*T. halophilus*) による汚染対策として、工場内の洗浄とヒスタミン非産生乳酸菌スターターの添加が効果的であることが田上ら^{2,3)}、袴田ら⁴⁾により報告されている。また、植木らは、醤油乳酸菌には凝集性を有する菌株があり⁵⁾、生揚げの透明性向上⁶⁾及び不揮発性アミン類の低減に有効であること⁷⁾を報告している。そこで、本研究では本県におけるヒスタミンの実態調査と醤油製造に適したヒスタミン非産生乳酸菌スターターの選抜を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 宮崎県におけるヒスタミンの実態調査

宮崎県内において自家製もろみを作っている醤油

製造場10工場から59検体の醤油もろみを採取し供試試料とした。乳酸は、醤油もろみを20倍希釈し、0.45 μm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 (Prominence有機酸分析システム, (株) 島津製作所) により測定した。ヒスタミンは醤油もろみを1,000倍に希釈し、0.45 μmメンブランフィルターでろ過後、LC/MS/MS (API3200, (株) エービー・サイエックス) により測定した(表1)。

各醤油もろみのヒスタミン生成菌の有無を確認するために、PCRによりヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) 遺伝子の有無を確認した。L-ヒスチジンを0.3%, 塩化ナトリウムを10%添加しpH 7.0に調整したMRS培地 (Difco) 10 mlに醤油もろみを0.1 ml接種し、30°Cで6日間培養後、集菌した菌体からPrepman Ultra Sample Preparation Reagent (Thermo Fisher SCIENTIFIC) を用いてDNAを抽出した。

ヒスタミンを生成する醤油乳酸菌*T. halophilus*はプラスミドにピルボイル型HDC遺伝子 (*hdcA*) を有していることから、*T. halophilus*の*hdcA* (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) に特異的なプライマー(2745f: 5'-TTGAACACACTTGGGGTTGA-3', 3566r: 5'-AATTGAGCCACCTGGAATTG-3') を Primer 3 (v. 0.4.0, <http://bioinfo.ut.ee/primer3>

-0.4.0) にて作成し、PCR (TaKaRa Taq™ HS Fast Detect (タカラバイオ(株)) によりHDC遺伝子の有無を確認した。なお、ポジティブコントロールには、*Tetragenococcus muriaticus* (*T. muriaticus*) NBRC100499^Tから抽出したDNAを使用した。

2. 醤油もろみからの乳酸菌の分離と分類

耐塩性乳酸菌の分離には、塩化ナトリウムを10%添加したMRS培地 (pH 7.0) を使用した。前述の方法にてDNAを抽出後、16S rRNA遺伝子解析または*T. halophilus*の16S rRNA遺伝子に特異的な領域のPCRによる分離株の分類を行った。16S rRNA遺伝子解析は、MicroSEQ 500 16S rDNA PCR Kit 及びMicroSEQ 500 16S rDNA Sequencing Kit (Thermo Fisher SCIENTIFIC) を用いて行い、相同性検索にはMicroSEQ微生物同定ソフトウェア v3.0 (Applied Biosystems, U.S.) を用いた。また、16S rRNA遺伝子解析以外の*T. halophilus*の同定法として、*T. halophilus*の16S rDNAに特異的なプライマー(193f: 5'-AGCTCAAAGGCGCTTTAC-3', 480r: 5'-TTCTGGTCAGCTACCGTC-3')⁸⁾ を用いたPCRを試みた。なお、ポジティブコントロールには、*T. halophilus* NBRC12172, 109726, 109727, 100498

表1. LC/MS/MSによるヒスタミンの分析条件(絶対検量線法)

LC条件	
カラム	Inertsil Amide 150 × Φ2.1 mm I.D. (ジーエルサイエンス)
移動相	A = 水, B = アセトニトリル, C = 500 mM 酢酸アンモニウム
移動相組成	A : B : C = 45 : 50 : 5
流量	0.2 ml/min
カラム温度	40°C
注入量	2 μl
測定時間	15 min
MS/MS条件	
イオン化方法	ESI (positive)
カーテンガス (CUR)	40 psi
イオンスプレーの電圧 (IS)	5500.0 V
温度 (TEM)	600.0 °C
ネブライザーのガス圧 (GS1)	80.0 psi
ターボガス圧 (GS2)	70.0 psi
測定モード	MRM
Q1 / Q3mass	112.1 Da / 95.1 Da

から抽出したDNAを用い, 比較として *T. muriaticus* NBRC 100499[†]から抽出したDNAを使用した。

また, 分離株については前述の方法によりHDC遺伝子の有無を確認した。

3. 凝集性を有する乳酸菌の選抜

植木らの方法⁵⁾を参考に, 乳酸菌のろ紙透過率により凝集性を有する乳酸菌を選抜した。醤油もろみから分離した乳酸菌を16.5%の塩化ナトリウムを含むMRS培地 (pH 7.0) にて30℃, 4日間静置培養した。培養液をろ過 (No.2, ADVANTEC) し, ろ過後の培養液の濁度 (660 nm) を分光光度計 (UV2100, (株) 島津製作所) で測定した。ろ過前培養液の濁度に対するろ過後培養液の濁度の百分率を透過率として算出し, 透過率が30%以下の乳酸菌を凝集性を有する株として選抜した。

4. 乳酸菌を添加した醤油の小仕込み試験

ヤマエ食品工業 (株) において乳酸菌を添加した醤油の小仕込み試験を行った。麴1,215 gに23.2%の塩水2,065 mlを混合し, 果実酒ビン5号 (4 l) に仕込んだ。乳酸菌は凝集性が確認された9株のうち, 過度にメチオノールを生成し漬物・薬品臭を生じた3株を除く

6株 (MS0304, MS0305, MS1308, MS6501, MS6504, MS0204) と市販株1株を醤油培地 (グルコース 2.0 g, 塩化ナトリウム 7.5 g, 淡口生揚げ 25 ml, 水 75 ml, pH 7.0) で前培養し, 10⁶ CFU/mlとなるように麴と塩水の混合時に添加した。対照の乳酸菌無添加区と合わせた8試験区をB-1試験区とした。仕込み後30日間は15℃, それ以降は30℃で管理し, 90日で試験を終了した。また, 工場の製造ラインにおける野生乳酸菌の影響を確認するため, 仕込み5日後の屋外タンクからもろみ3 lをサンプリングし, B-1試験区と同様に対照の乳酸菌無添加区と合わせた8試験区をB-2試験区とした。

また, 県内醤油もろみから分離したヒスタミン産生菌38L10株及びMS0204株を添加した小仕込み試験を行った。麴800 gに23.2%塩水960 mlを混合し, 上記培地で前培養した38L10株を10²~10⁵, MS0204株を10⁵ CFU/mlとなるようにそれぞれ添加した。29日目の酵母添加まで15℃, 添加以降30℃で管理し, 121日で試験を終了した。もろみ上清を2,000倍希釈し0.45 μmフィルターろ過後, LC/MS/MS (API3200, (株) エービー・サイエックス) により測定した(表2)。

表2. LC/MS/MSによるヒスタミンの分析条件(内部標準法)

LC条件	
カラム	Inertsil Amide 150 × Φ2.1 mm I.D. (ジーエルサイエンス)
移動相	A = アセトニトリル, B = 0.1% ギ酸-アセトニトリル, C = 40 mM ギ酸アンモニウム
移動相組成	A : B : C = 4 : 3 : 3
流量	0.6 ml/min
カラム温度	40℃
注入量	10 μl
測定時間	10 min
MS/MS条件	
イオン化方法	ESI (positive)
カーテンガス (CUR)	25 psi
イオンスプレーの電圧 (IS)	4500.0 V
温度 (TEM)	400.0 °C
ネブライザーのガス圧 (GS1)	50.0 psi
ターボガス圧 (GS2)	80.0 psi
測定モード	MRM
Q1 / Q3 mass	ヒスタミン: 112.04 Da / 95.00 Da, ヒスタミン-d4(内部標準): 115.87 Da / 99.00 Da

5. もろみ発酵経過中のpH及びアミノ酸の変化

各もろみは0, 15, 30, 45, 60, 90日後に採取し、pH及び遊離アミノ酸濃度を測定した。遊離アミノ酸は0.02 mol/l 塩酸で200倍に希釈し、0.45 μmのメンブランフィルターでろ過後、高速アミノ酸分析計(L-8900, (株) 日立製作所)を用いてニンヒドリン発色法により測定した。

6. *T. halophilus*株のクエン酸資化とジアセチル生成

選抜した*T. halophilus* 6株のクエン酸資化とジアセチル生産性を調べた。クエン酸資化性試験にはクエン酸一水和物0.3%, 塩化ナトリウム10%をMRS培地に添加し、pH 7に調整した培地を使用した。また、比較としてクエン酸を添加しない培地を使用した。6株の前培養液を培地に接種し、30℃で5日間静置培養後、培養液中のジアセチル及び有機酸濃度を求めた。ジアセチルは、GC/MS (GCMS-QP2010 Plus, AOC-5000 Auto Injector (株) 島津製作所)を用いて測定した(表3)。

7. 生揚げ醤油の官能評価

B-1試験区の官能評価を評点法、順位法の2段階に分けて実施した。

評点法では、市販株を使用した生揚げ醤油を基準品(評点3)に設定し、他の試料を5段階(1:評価低

い~5:評価高い)で、宮崎県食品開発センターの職員5名とヤマエ食品工業(株)の社員7名をパネリストとして評価した。

順位法では、評点法で選抜した3試料と基準品とした市販株製生揚げについて、再度宮崎県食品開発センターの職員5名とヤマエ食品工業(株)の社員6名をパネリストとした官能評価により順位をつけ、1位の菌株を定めた。

なお、全ての官能評価は試料名を伏せて実施し、味、香り、総合の3項目について評価した。

結果及び考察

1. 宮崎県におけるヒスタミンの実態調査

宮崎県内の醤油もろみの有機酸及びヒスタミン濃度を調査した結果、野生乳酸菌によるヒスタミン生成が確認され、ヒスタミン濃度が高いもろみは乳酸濃度が高い傾向にあった。(図1)。また、コーデックスにおける魚醤のヒスタミン濃度の基準は400 mg/kgであるが、全てのもろみで基準値以下の値であった。PCRにより、醤油もろみ59検体中31検体でHDC遺伝子が検出された。また、ヒスタミンを検出せず、かつPCRによりHDC遺伝子が検出されなかったのは、10工場中2工場であった。

表3. GC/MSによるジアセチルの分析条件

SPME	
SPMEファイバー	60 mm Polyethylene Glycol
試料	3 ml / 10 ml / バイアル
SPME条件	バイアル温度 40℃, 抽出時間 30分間 (アジテーション ON), ヘッドスペース法
GC	
注入口温度	230℃
カラム	DB-WAX 30 m, Diam. 0.25 mm, Film 0.25 mm
オープン	40℃ (10分) - 4℃/min - 230℃ (5分)
インターフェース温度	230℃
MS	
イオン化モード	EI
イオン源温度	200℃
測定モード	選択イオン検出法 (SIM) m/z = 86

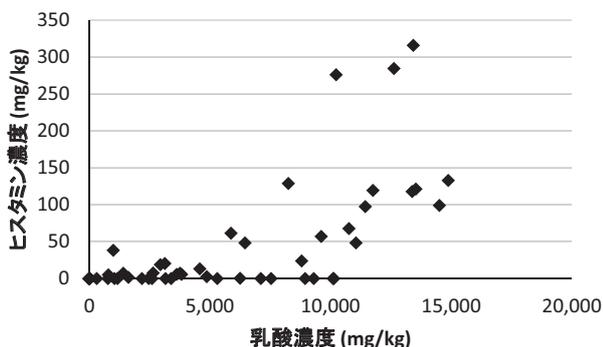


図 1. 宮崎県内の醤油もろみ中の乳酸濃度とヒスタミン濃度

2. 醤油もろみからの醤油乳酸菌の分離と分類

採取した醤油もろみから218株を分離した。16S rRNA遺伝子解析の結果、醤油もろみから分離した218株中206株が*T. halophilus*、12株が*Staphylococcus*属と分類された。また、16S rRNA遺伝子解析で*T. halophilus*と分類された全ての菌株について、*T. halophilus*に特異的な約300 bpのバンドが確認された。また、PCRによりHDC遺伝子の有無を確認したところ、4株でHDC遺伝子が検出された。これはもろみ中のHDC遺伝子検出頻度に対して低い割合であるが、もろみが古くHDC遺伝子保有株の残存が少なかった、あるいは分離培地での保有株の生育が悪かったためであると考えられた。

3. 凝集性を有する乳酸菌の選抜

乳酸菌の選抜には、HDC遺伝子が検出された4株を除く202株で凝集性試験を行った。その結果、ほとんどの乳酸菌の凝集性が低い中、透過率30%以下の乳酸菌が9株確認された(図2)。

4. 小仕込み試験におけるヒスタミン生成確認

野生乳酸菌の影響を確認するため、屋外タンクで5日間発酵させたもろみを同様に仕込んだB-2試験区の90日後のヒスタミン濃度を測定した。その結果、乳酸菌を添加した全ての試験区ではヒスタミンのピークは確認されなかったが、乳酸菌を添加しなかった対照試験区では定量下限値(10 μg/l)未満のヒスタミンのピーク(保持時間 7.9 分)が確認された(図3)。こ

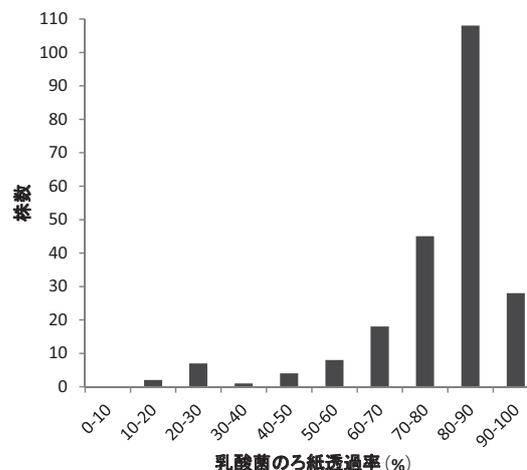


図 2. 醤油もろみから分離した*T. halophilus*のろ紙透過率

のにより、仕込み時に乳酸菌を添加することは混入する野生乳酸菌によるヒスタミン生成に対する抑制に効果があることを確認できた。

そこでさらに、ヒスタミン産生抑制について確認するため、もろみから分離したヒスタミン産生乳酸菌38L10株及びMS0204株を1/1000~1/1まで比率を変えて添加した小仕込み試験を実施し、ヒスタミン濃度を測定した。図4のとおり、産生菌に対して1000倍量の非産生菌を添加した試験区において仕込み121日後ヒスタミンは検出されず、MS0204株のヒスタミン産生抑制能が確認された。

5. 乳酸菌を添加した醤油の小仕込み試験におけるpHの変化

B-1試験区の各醤油もろみの0, 15, 30, 45, 60, 90日後のpHを測定した(図5)。乳酸菌を添加したもろみは15日を過ぎて徐々にpHが低下し始め、温度を30℃に上げた30日後から急激にpHが低下した。その後はpHの変動は小さかった。醤油醸造に使用される*T. halophilus*の至適pHは中性付近であり、pH 5.0以下では生育が抑制され、pH 4.6程度で発酵は停止すると言われている⁹⁾。MS0304株とMS0305株の90日後のpHは4.6であり、酸耐性の強い菌株であると考えられた。また、MS0204株はpHの低下が緩やかであった。

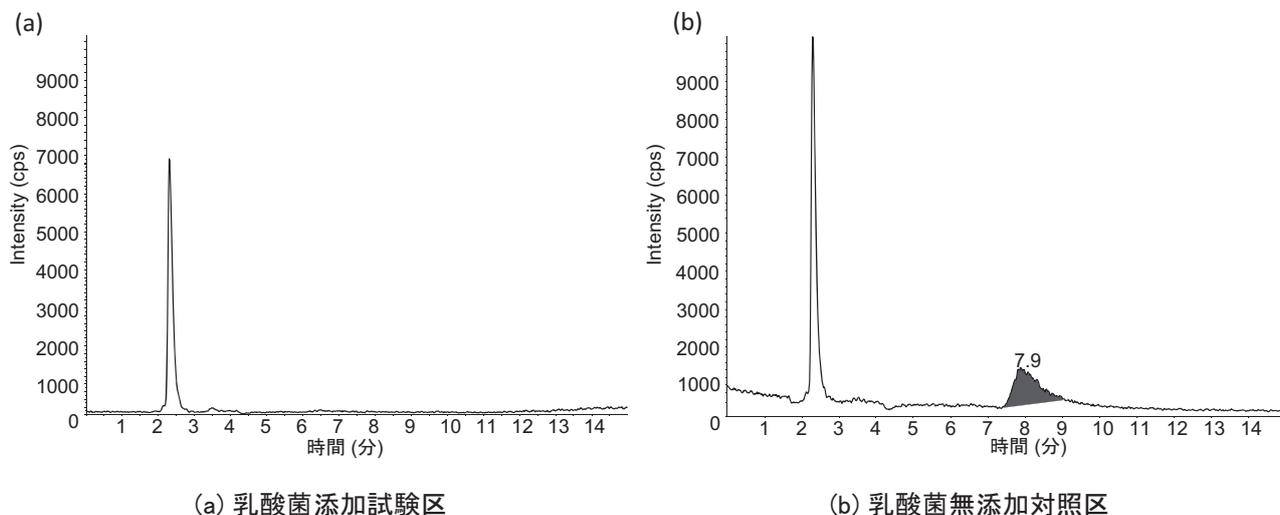


図 3. 90日間発酵後の醤油もろみのLC/MS/MSクロマトグラム(B-2 試験区)

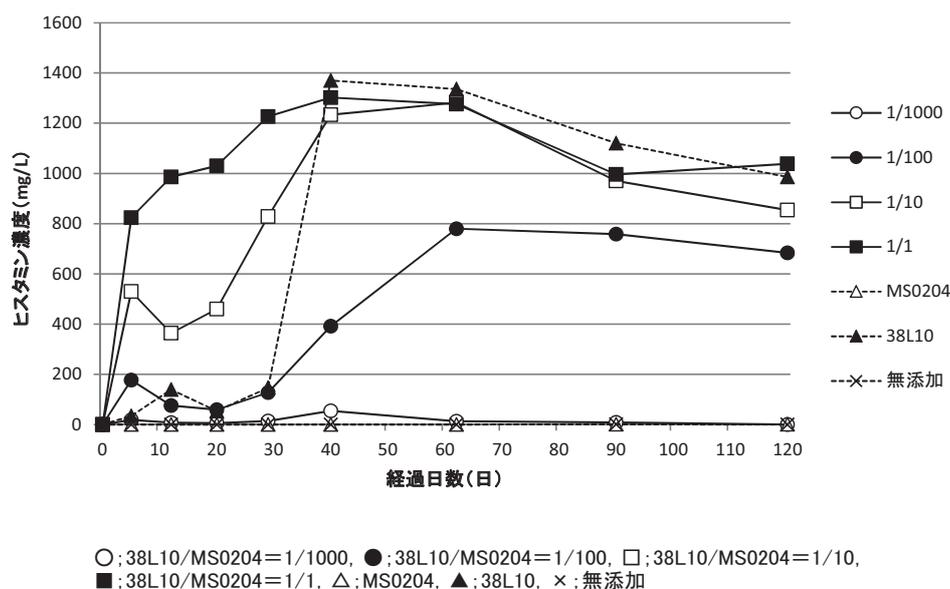


図 4. ヒスタミン産生乳酸菌(38L10)及び非産生乳酸菌株(MS0204)を添加した醤油もろみのヒスタミン含量

6. 乳酸菌を添加した醤油の小仕込み試験におけるアミノ酸の変化

B-1 試験区の小仕込み醤油もろみの 0, 5, 15, 30, 45, 60, 90日後の遊離アミノ酸濃度を測定し、菌株による違いが見られたアスパラギン酸, アラニン, アルギニン, オルニチン含量の変化を図 6 に示した。*T. halophilus*によるアミノ酸の脱炭酸反応は既知のものであり、酸味のあるアスパラギン酸をマイルドな味を持つアラニンへ変換する菌株は、醤油の香味を

改善すると言われている¹⁰。MS6504株は30日後からアスパラギン酸の濃度が減少し、アラニンの濃度が増加したことから、アスパラギン酸からアラニンへの変換能を有する菌株であると考えられた。MS6501, MS6504, MS1308株は30日後からアルギニンの濃度が減少し、オルニチンの濃度が増加したことから、アルギニンからオルニチンへの変換能を有する菌株であると考えられた。また、アルギニンをオルニチンに変換する際、アンモニア 2 分子が生成されたことにつ

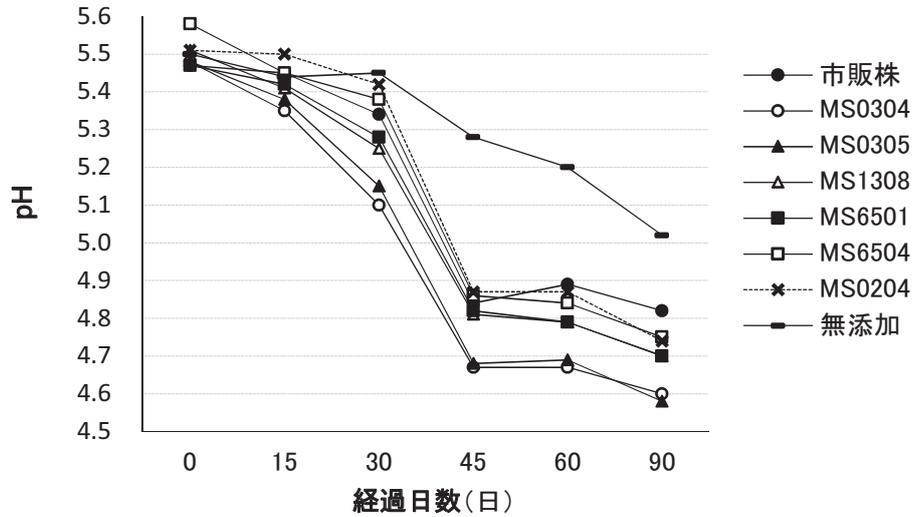
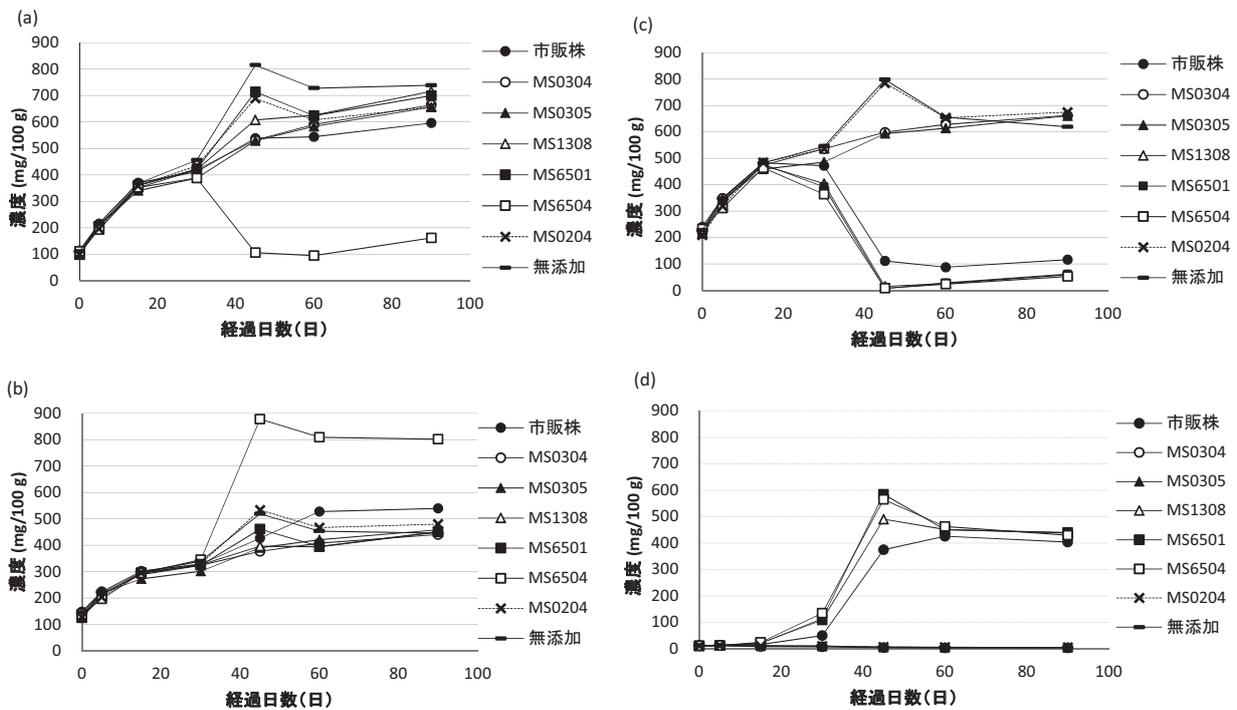


図5. 各乳酸菌株を添加した醤油もろみのpH変化 (B-1 試験区)



(a) アスパラギン酸, (b) アラニン, (c) アルギニン, (d) オルニチン

図6. 90日間発酵後の醤油もろみのLC/MS/MSクロマトグラム (B-2 試験区)

いては、脱炭酸によりpHの低下を抑制することで生育に有利な環境を作り出していると報告されている¹⁰⁾。MS0204株はアミノ酸を代謝せず、発がん性物質の前駆体を生成しない点で醤油醸造に適した株であると考えられた。

7. *T. halophilus*株のクエン酸資化とジアセチル生成
醤油もろみから分離、選抜した6株 (MS0304, MS0305, MS1308, MS6501, MS6504, MS0204) のクエン酸添加及び無添加培地における培養後の有機酸及びジアセチル濃度を表5に示す。MS0304, MS0305,

表 4. 分離株のクエン酸添加及び無添加培地における培養後の有機酸及びジアセチル濃度

	MRS培地						0.3% クエン酸添加MRS培地					
	MS0304	MS0305	MS1308	MS6501	MS6504	MS0204	MS0304	MS0305	MS1308	MS6501	MS6504	MS0204
クエン酸 (mmol/l)	N.D.	N.D.	9	10	9	N.D.						
乳酸 (mmol/l)	74	76	67	61	64	72	93	94	81	72	70	92
酢酸 (mmol/l)	90	92	90	89	90	93	110	110	93	91	92	110
ギ酸 (mmol/l)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4
ジアセチル ($\mu\text{mol/l}$)	N.D.	N.D.	N.D.	2.0	1.0	4.0	1.0	N.D.	2.0	3.0	3.0	13

N.D. : not detected

MS0204株では、培地中の全てのクエン酸が資化されており、酢酸濃度が増加した。また、MS0204株はクエン酸を添加した培地でジアセチルを高生産した。

8. 生揚げ醤油の官能評価

市販株、選抜した乳酸菌 6 株を添加した生揚げ及び乳酸菌を添加していない対照生揚げ (B-1 試験区) の官能評価結果の結果, 8 試験区による評価法ではMS0204株を添加した生揚げが香り, 味, 総合ともに最も評価が高かった (表 5)。また, MS0305,

MS6504株は市販株よりも味と総合評価が高く良好な醤油乳酸菌と考えられた。したがって, これら 3 株について次の順位法による官能評価を行ったところ, 順位法においてもMS0204株の評価が最も高い結果が得られた。MS0204株は, 前述のとおりジアセチル生産性が高い特性を持っている。醤油には非常に多くの香气成分が含まれているが, 市販醤油にジアセチルを添加した官能評価において約800 mg/Lのジアセチル濃度の醤油で官能的に高い評価が得られたことから, 本報の官能評価の結果においては, ジアセチルが少なからず香味に影響を与えたものと考えられた。また, MS0204株は前述のとおりアミノ酸を代謝せず, pHの低下も緩やかな特性を有していることから, MS0204株は, 醤油製造に適した乳酸菌であることが推察された。

表 5. 乳酸菌を添加した生揚げ醤油の官能評価結果 (B-1 試験区)

評価法 (1: 評価低い ~ 5: 評価高い)			
乳酸菌株	平均点		
	香り	味	総合
市販株	3.00	3.00	3.00
MS0304	2.67	3.00	2.88
MS0305	2.63	3.33	3.21
MS1308	2.67	3.17	2.88
MS6501	2.92	3.08	3.04
MS6504	2.92	3.50	3.29
MS0204	3.54	3.50	3.83
無添加	3.04	3.00	2.96

順位法 (1位: 評価高い ~ 4位: 評価低い)			
乳酸菌株	平均順位		
	香り	味	総合
市販株	3.00	3.18	3.18
MS0305	3.00	3.18	3.18
MS6504	3.36	3.64	3.64
MS0204	2.27	2.00	2.00

要 約

1. 県内の醤油もろみ 59 検体のヒスタミン濃度は全てコーデックスにおける魚醤の基準値以下であったが, 31 検体で HDC 遺伝子が検出された。一方, ヒスタミン及び HDC 遺伝子のいずれも検出されなかったのは, 10 工場中 2 工場であった。
2. 醤油もろみから 218 株を分離し, 206 株が *T. halophilus* と分類された。また, そのうち 4 株で HDC 遺伝子が検出された。
3. 凝集性試験の結果, 透過率 30% 以下の乳酸菌が 9 株確認された。
4. 製造ラインからサンプリングしたもろみを用いた小仕込み試験において乳酸菌を添加した全ての試験区でヒスタミンのピークは検出されなかった。さらに, ヒスタミン産生菌及び非産生菌の混合小仕込み試験において, MS0204 株のヒスタミン産

生抑制能を確認した。

5. 生揚げ醤油の官能評価の結果, アミノ酸を代謝せず pH の低下も緩やかでジアセチル生産性の高い MS0204 株を添加した生揚げが最も官能的に優れていた。

謝 辞

醤油乳酸菌の研究に携わっていただいた古市佳代氏, 杉本未奈子氏, 醤油もろみの採取に協力していただいた宮崎県内の醤油製造場及び宮崎県味噌醤油工業協同組合の皆様へ感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 日南市産業活性化協議会: 大堂津 醸造のまちをひも解く (2014)
- 2) 田上秀男, 野田義治, 日高修, 松岡清司, 小林真志, 紅林孝幸: 本誌, 41, 327-338 (2015)
- 3) 田上秀男: 醸協, 112, 179-192 (2017)
- 4) 袴田雅俊, 上村慎子, 遠藤衛作, 大坪倫子, 杉山直人, 鈴木邦明: 本誌, 42, 61-66 (2016)
- 5) 植木達朗, 井沢圭史, 大場和徳, 野田義治: 本誌, 26, 197-207 (2000)
- 6) 植木達朗, 井沢圭史, 大場和徳, 野田義治: 本誌, 28, 105-110 (2002)
- 7) 植木達朗, 片岡由希子, 脇山元気, 案浦謙二, 大場和徳, 野田義治: 本誌, 42, 155-160 (2016)
- 8) A. Juste', B. Lievens, M. Klingeberg, C. W. Michiels, T. L. Marsh, K. A. Willems: *Food Microbiology*, 25, 413-421 (2008)
- 9) 析倉辰六郎: 醤油の科学と技術, (日本醸造協会, 東京)
- 10) 日本乳酸菌学会: 乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス, (京都大学学術出版会, 京都)



令和元年度・第64号

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

令和2年11月 1日発行

宮崎県工業技術センター／〒880-0303

宮崎県宮崎市佐土原町東上那珂16500-2

TEL 0985-74-4311

FAX 0985-74-4488

宮崎県食品開発センター／〒880-0303

宮崎県宮崎市佐土原町東上那珂16500-2

TEL 0985-74-2060

FAX 0985-74-4488