ISSN 1345-5974
2022-No.67

令和４年度・第 67 号

研　究　報　告

Report of
Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center &
Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center
FY 2022

MITC 宮崎県工業技術センター
MFDC 宮崎県食品開発センター

目　　次

宮崎県工業技術センター

【報告】

焼酎粕を用いた微細藻類の高密度培養および DHA 高含有油脂の製造･･･堂籠　究・森谷　亜希
小玉　誠・赤﨑　いずみ
林　雅弘･････････････････････1

バイオマス燃焼時に発生するクリンカの焼結程度定量に関する研究･･････大迫　貴太・赤﨑　いずみ･････5

油中ナノ粒子分散体中の水溶性物質の高濃度化に関する検討･････････････下池　正彦・赤木　剛
山本　建次・清水　正高
髙木　哲哉･･････････････････9

円形孔と矩形孔を介して噴出生成した均一液滴の違い･･････････････････清水　正高･鳥越　清･････････15

電解硫酸技術を活用した屋外で白化しにくいアルミ合金製品と
表面処理装置の開発･･山本　建次・永井　達夫
田上　兼輔・河野　拓人
柳　洋介･････････････････････17

調湿液を用いた気液接触法に関する研究･･････････････････････････････小野　貴哉・陰山　翼
田河　智章･･････････････････21

IoT システムのノイズトラブル原因の特定と対策 ･･････････････････････小田　誠･小玉　昂史･････････25

AI を利用した画像認識技術等に関する研究 ･･････････････････････････小玉　昂史・肥後　一彦･････31

宮崎県食品開発センター

【報告】

ぎょうざ特徴の見える化：主成分分析による特徴マッピングを
活用した消費者向けポスターの開発‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥金井　祐基・西原　玲子
渡辺　愛香・矢野　翔太
永山　志穂・朝倉　麻衣
高橋　克嘉・佐藤　未遊
平川　良子‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥39

畜産副生物を活用した食品素材開発‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥有簾　真奈美・永山　志穂
福良　奈津子・高橋　克嘉‥‥45

糖類ゼロのフルーツビール開発‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥越智　洋・山本　英樹
福良　奈津子・水谷　政美
森　翔太‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥53

【再録】

焼酎もろみの腐造に関与するクエン酸資化性乳酸菌
Limosilactobacillus fermentum の調査‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥高山　清子・喜田　珠光
山本　英樹・水谷　政美
藤原　絵美・梶原　康博
髙下　秀春‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥57

Contents

Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center

【Paper】

Thraustochytrid High-density Culture and DHA High-content Oil Production using *Shochu* Distillery Residues
Kiwamu DOHGOMORI, Aki MORITANI, Makoto KODAMA, Izumi AKAZAKI and Masahiro HAYASHI ····· 1

Study on the Quantification Method of Clinker Production Degree due to Biomass Combustion
Takahiro OSAKO and Izumi AKAZAKI ····· 5

Study on High Concentration of Water-Soluble Substances in Nanoparticle-in-Oil Dispersion
Masahiko SHIMOIKE, Takeshi AKAKI, Kenji YAMAMOTO, Masataka SHIMIZU and Tetsuya TAKAKI ····· 9

Differences between Uniform Droplets Generated by Jetting thorough Circular and Rectangular Hole
Masataka SHIMIZU and Kiyoshi TORIGOE ····· 15

Development of Aluminum Alloy Products with Excellent Corrosion Resistance and Equipment for Surface Treatment Using Electrolyzed Sulfuric Acid Technology
Kenji YAMAMOTO, Tatsuo NAGAI, Kensuke TANOUE, Takuto KAWANO and Yosuke YANAGI ····· 17

Study on gas-liquid contact method using humidity control liquid
Takaya ONO, Tsubasa KAGEYAMA and Tomoaki TAGAWA ····· 21

Cause Identification and Countermeasures of Noise Trouble in IoT System
Makoto ODA and Takafumi KODAMA ····· 25

Study on AI Image Recognition and Related Technologies
Takafumi KODAMA and Kazuhiko HIGO ····· 31

Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center

【Paper】

Visualization of *Gyoza* Characteristics : Development of Consumer Poster using Characteristics Mapping based on Principal Component Analysis
Yuki KANAI, Reiko NISHIHARA, Aika WATANABE, Shota YANO, Shiho NAGAYAMA, Mai ASAKURA, Katsuyoshi TAKAHASHI, Miyu SATO and Yoshiko HIRAKAWA ····· 39

Development of Food Materials Utilizing Livestock by-Products
Manami ARIKADO, Shiho NAGAYAMA, Natsuko FUKURA and Katsuyoshi TAKAHASHI ····· 45

Development of Sugar-free Fruit beer
Hiroshi OCHI, Hideki YAMAMOTO, Natsuko FUKURA, Masami MIZUTANI and Shota MORI ····· 53

【Reprints】

Investigation of *Limosilactobacillus fermentum* assimilating citrate that cause putrefaction of *shochu* mash
Kiyoko TAKAYAMA, Tamami KIDA, Hideki YAMAMOTO, Masami MIZUTANI, Emi FUJIHARA, Yasuhiro KAJIWARA and Hideharu TAKASHITA ····· 57

焼酎粕を用いた微細藻類の高密度培養および DHA 高含有油脂の製造

堂籠　究*1・森谷　亜希*1・小玉　誠*2・赤﨑　いずみ*1・林　雅弘*3

Thraustochytrid High-density Culture and DHA High-content Oil Production using *Shochu* Distillery Residues

Kiwamu DOHGOMORI*1, Aki MORITANI*1, Makoto KODAMA*2, Izumi AKAZAKI*1 and Masahiro HAYASHI*3

従属栄養性であるラビリンチュラ類の DHA 高産生株 mh1913 株を用いて，栄養源として焼酎粕を最大限利用する，低コストの DHA 高含有油脂の生産技術について検討を行った．

事業化を前提とした低コストの培養条件を検討し，培養前の固液分離の簡略化が可能であることを確認した．また，ジャーファーメンターを用い，酸素の供給方法や栄養源の添加タイミングなどを調整することで，菌体量が焼酎粕 1 L 当たり最大 120 g を超える高密度培養ができた．培養液からの脂肪酸の回収法については，食品利用を考慮し，*n*-ヘキサンを使用した液液抽出法を検討した．抽出時間や前処理法を調整することで，約 40%の DHA を含んだ油脂（ヘキサン抽出物）を回収することができた．

1　はじめに

当県の本格焼酎出荷量は約11万kL/年（2022年）[1]であり，8年連続の日本一を達成している．一方，焼酎製造時には蒸留残渣として焼酎粕が発生し，県内の発生量は20万t/年を超える[2]．各酒造メーカーは飼肥料やメタン発酵によるガス化など，様々な手法により焼酎粕の活用を図っているが，より高付加価値な用途開発が望まれている．

焼酎粕は，糖質・窒素・無機塩のほか，様々な発酵代謝産物を含有している．これまでに我々は，焼酎粕が，乳酸菌[3]や麹菌[4]の培地として優れた性質を有することを見いだしており，焼酎粕というバイオマスを原料とした微生物発酵による高付加価値成分生産の可能性について検討してきた．その中で，焼酎粕培地を用いることで，従来の合成培地よりも脂質の回収量が増加した事例も確認している[5]．

ラビリンチュラ類は従属栄養性の海洋性真核微生物で，優れた増殖性・脂質蓄積性を持つほか，DHA や EPA などの多価不飽和脂肪酸を高生産する株が存在することから，実用化研究が進められている[6]．ただし，従属栄養性であることから，培養には多量の栄養素が必要であることがコスト面での課題となっている．DHA は中性脂肪の低下や動脈硬化のリスク低減のほか，脳機能の改善などの効果が報告されており[7,8]，サプリメント原料としてのニーズが高まっている高機能性素材である．現在のところ，その供給源の多くは魚由来であるが，魚由来の臭気による利用用途の限定や，世界的な漁獲量の減少を背景として，魚由来以外の持続可能な生産技術の開発が求められている．

今回の報告では，ラビリンチュラ類のうちDHA高産生株を用いて，県内で最も生産量の多い，芋を原料とした焼酎製造過程で排出された焼酎粕を利用したDHA含有油脂の製造法とその効率化について検討した．

＊　宮崎県産業廃棄物税基金充当事業
＊1　資源環境部
＊2　資源環境部（現 環境森林部環境管理課）
＊3　宮崎大学農学部

２　実験方法

２－１　培養前処理の簡略化

排出された直後の焼酎粕には，芋の繊維など固体成分が 40 wt%程度含まれている．繊維質はラビリンチュラが資化できないため，過去の検討[9]では 10 μm フィルターを用いた固液分離操作を実施後，培養を行っていた．この固液分離操作の簡略化について検討した．

県内で最も生産量の多い[1]，芋を原料とした焼酎の焼酎粕を県内酒造メーカーから採取した．採取した芋焼酎粕原液に対して，ろ布（100 mesh）を使った簡易ろ過を行い，焼酎粕ろ過液（FL），さらに FL を 10 μm フィルターに通過させて焼酎粕清澄液（CL）を得た．さらに，焼酎粕原液，FL，CL に対し，それぞれグルコースと硫酸マグネシウム 7 水和物を過去の検討[9]を参考に添加し，pH 6.8 とした後に，加圧滅菌することで GS 培地（表 1）を調整した．原液，FL および CL から調整した 3 種類の GS 培地でラビリンチュラの回分培養を行い，各培地の培養効率を比較した．

表１　GS 培地

Glucose	30 g/L
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2.7 g/L
pH	6.8

ラビリンチュラは宮崎大学から供与された DHA 高産生株である mh1913 株（*Aurantiochytrium* sp.）を用いた．上記株を GY31 液体培地[9]により前培養を行い，それを GS 培地に添加し，ジャーファーメンターで 24 時間の培養を行った．

培養は，2.5 L サイズ（φ131×180 mm）のジャーファーメンターに対し，1,200 mL の GS 培地を入れ，通気量 1,200 mL/min，回転数 600 rpm で行った．消泡剤として Antifoam PE-M（富士フィルム和光純薬㈱）　0.1%（w/v）を添加した．培養中の pH は硫酸または水酸化ナトリウム溶液により pH 6.0 となるように調整した．

培養後は，培養液を固液分離し，沈殿物を乾燥することで乾燥菌体重量とした．また，凍結乾燥した乾燥菌体をクロロホルム/メタノール溶液により脂質を抽出し，蒸留乾固することで脂質生産量とした．さらに，10%メタノール性塩酸を添加し，80℃で 3 時間反応させることにより脂肪酸メチルエステル化したものを GC-FID（㈱島津製作所，GC-2014）で分析し，脂肪酸生産量を求めた．

２－２　培養条件の調整

1）散気条件の検討

一般的に，好気性微生物の培養において培養が進行すると，菌体が増殖することで培養液中の溶存酸素濃度が低下し，培養の効率が低下する．そこで，まずジャーファーメンター培養における培養液中の溶存酸素濃度に関連する散気条件を検討した．

2.5 L サイズのジャーファーメンターに対し，CL から調整した GS 培地 1,200 mL を入れ，72 時間の流加培養（流加回数 4 回）を行い，糖の消費速度および菌体量を比較した．通気量，消泡剤および pH 調整剤の添加は 2-1 と同様の条件で実施した．散気管として，金属製の通常散気管（孔径 0.5mm×4 穴）とシラス多孔質ガラス膜（SPG 膜，孔径 1 μm，50 mm×2 本）散気管の 2 種類を使用し，マグネットスターラーにより回転数 600 rpm でかくはんした．

2）流加培養

次に，72 時間の流加培養で菌体回収量が多かった散気条件により，15 日間の流加培養を行った．連続培養と同様の条件でジャーファーメンターを調整後，培地中のグルコース残量が低下した時点で，硫酸マグネシウム 7 水和物を加えた CL に溶解させたグルコースおよび酵母エキスを添加し，流加前に培養液量が初発量を超える場合は，総量 1 ,200 mL を維持するように培養液を抜き取って培養を行い，菌体量および脂肪酸量の測定を行った．

２－３　脂質の液液抽出法の検討

過去の検討[9]においては，DHA の抽出には，脂質抽出に適したクロロホルム/メタノールを用いてきた．しかし，これらの溶媒は人体への毒性が強く，食品への利用は制限される．そこで，食品用脂質の抽出に利用が可能な有機溶媒である *n*-ヘキサンを用いた抽出法の検討を行った．また，従前は培養液を凍結乾燥して得た乾燥菌体に溶媒を加えて抽出を行う固液抽出を行っており，乾燥などの工程の簡略化のため，液液抽出について検討した．

直径 100 mm，高さ 150 mm の円筒形の容器に培養液と溶媒を加え，スターラー上で回転数 1,200 rpm で一定時間かくはんすることで抽出を行った．クロロホルム/メタノールによる固液抽

出回収量を対照とし，かくはん時間を変えて脂質回収量の比較を行った．抽出物は 10%メタノール性塩酸を添加しメチルエステル化を行った後，GC-FID による分析を実施した．

３　結果および考察

３－１　培養前処理の簡略化

焼酎粕原液（固形分 40 g/L），FL（17 g/L），CL（0.1 g/L）それぞれを用いて 24 時間の回分培養を行い，培養後の菌体量および脂肪酸量（図 1），培養中の溶存酸素濃度の変化（図 2）を比較した．

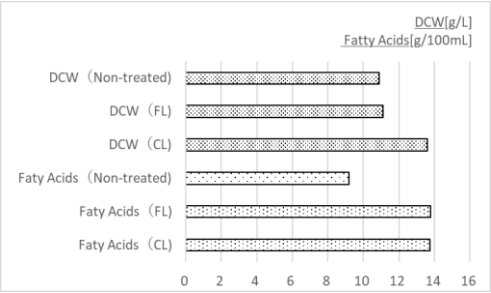


図 1 培養後の菌体量および脂質量

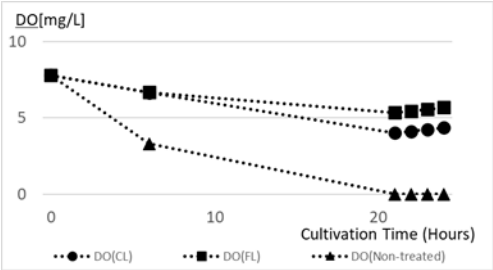


図 2 溶存酸素濃度の変化

いずれの条件でも，菌体は増加しており，固形分を含んだままでも培養が可能であることが確認された．24 時間後の脂肪酸量においても，FL と CL とは大きな差がなかった．一方で，原液は，溶存酸素濃度の低下が大きく，脂質生産量も FL，CL よりも少ない結果となった．焼酎粕原液はペースト状であり，そのまま培養に用いると装置への負荷も大きく，溶存酸素濃度も著しく低下することから，ジャーファーメンター培養においては，最低限，ろ布による簡易ろ過は必要と考えられた．

３－２　培養条件の調整

1) 散気条件の検討

最も菌体回収率の高かった CL を用いて 72 時間の流加培養を行い，散気条件の検討を行った．過去の検討[9]の中で，ジャーファーメンター中の回転数を上げ溶存酸素濃度を上げることで，菌体回収率が上昇することを確認している．一方で，回転数を上げすぎると培養装置への負荷が大きく，また，回転数を上げることで菌体を傷つけ，菌へストレスを与える危険性が高くなる．一定の回転数でも，溶存酸素濃度の低下を防ぎ，菌体増殖を効率化できないか，マイクロバブル散気が可能である SPG 膜散気管を用いて流加培養を行い，通常散気管を用いた場合と，菌体回収量等を比較した．

流加に用いる窒素源として酵母エキスを用いた．培養試験前に予備検討としてジャーファーメンター培養を行い，糖および窒素の減少スピードを確認したところ，糖が初発の 1/3 程度になった際に，窒素濃度は初発の 2/3 程度残存しており，糖と窒素の消費速度に違いがあった．窒素の消費速度を考慮し，糖の添加タイミングに合わせ，初発の C/N 比と等量になる様に添加した．

培養の結果を図 3 に示す．培養の結果，SPG 膜散気管を用いた培養の方が，通常散気管を用いた時よりも，菌体量，脂肪酸量共に多い結果が得られた．一方で，DO に関しては，大きな差はなかった．菌体が増えると，要求される酸素量も増えるため，SPG 膜散気管を用いることで，酸素の溶解スピードが高まり，DO の低下を抑制している可能性が考えられた．

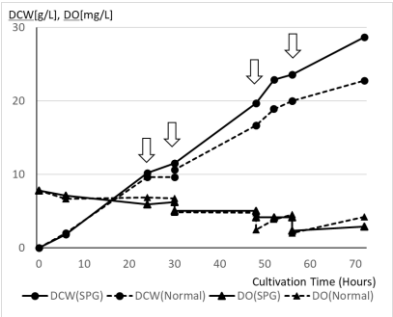


図 3 散気方法による菌体量と溶存酸素濃度の変化

2) 流加培養

次に，培養効率の良かった SPG 膜散気管を用いて，1)と同じ条件で調整した培地を用いて 15 日間の流加培養を行った．なお，予備試験において培養液中の糖がない状態が一定時間継続すると菌体増殖が進行しないことが確認されたことから，培養液中の糖濃度が 0 にならない様に流加を行った．

流加培養における菌体量および溶存酸素濃度の変化を図 4 に示す．360 時間の培養で，最大 120 g/L の菌体を回収できた．また，この菌体から焼酎粕 1 L 当たり約 20 g の DHA を含む脂肪酸が得られた．

今回の試験では流加する窒素源として酵母エキスを用いた．初発の C/N 比の維持を考えると，液状の窒素源を用いる場合，芋焼酎粕よりも窒素濃度が高いものが望ましい．芋焼酎粕を濃縮して使用する方法もあるが，芋焼酎粕よりも窒素濃度の高い麦焼酎粕を添加栄養源とすることで，より低コストに，未利用資源の有効活用を促進できるものと考えられた．

また，今回の培養で得られたラビリンチュラ菌体に含まれる脂質の含有率は 20%程度であり，過去の報告[9]（約 50%）よりも少なかった．この原因の一つとして，流加した窒素量が過剰であった可能性が考えられ，培養後期で窒素供給量を絞ることで，脂肪酸生産量を向上できる可能性が考えられた．例えば，菌体増殖を促進させるため，培養初期では麦焼酎粕を供給，終期では，芋焼酎粕の供給に変更することなどが想定された．

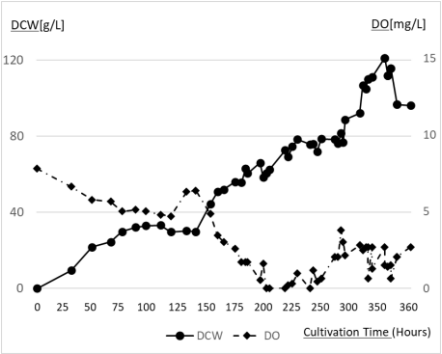


図 4 流加培養における菌体量および溶存酸素濃度変化

３－３　脂質の液液抽出法の検討

食品用脂質の抽出に利用が可能な有機溶媒である *n*-ヘキサンを用いた液液抽出法について検討した．

まず，培養液量の 2 倍のヘキサンを加えて，1 時間，2 時間および 3 時間のかくはんをそれぞれ 3 回繰り返し行った．すると，2 時間処理の脂質回収量は，3 時間処理とほとんど差がなかったものの，1 時間処理では，3 時間処理の 60%弱であった．

そこで，処理時間を 2 時間に固定し，培養液の 2 倍量のヘキサンまたはヘキサン/エタノール（9/1, v/v）を加え，かくはんを 3 回繰り返し行い，回収した脂肪酸量をクロロホルム/メタノールによる固液抽出の回収量と比較した．その結果を図 5 に示す．いずれの溶媒を用いても，3 回抽出を繰り返すことでクロロホルム/メタノール抽出の約 9 割の回収が可能であることを確認した．エタノールを添加せずとも，高い回収率を示しており，コストを考えると *n*-ヘキサンのみで抽出した方が望ましいと考えられた．また，*n*-ヘキサン抽出物に占める DHA（22:6 n-3）の含有率は約 40%であり，魚油（23%[9]）の 1.5 倍以上の DHA 高含有油脂が生産できた．この油脂をけん化することなどで，コストはかかるものの，さらに含有濃度が高められることが考えられた．

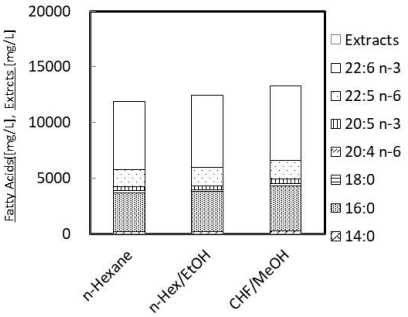


図 5 液液抽出による脂質回収量

４　まとめ

・培養前の固液分離処理については，培養効率を踏まえ，簡易的なろ過をした方が望ましいと考えられた．

・ジャーファーメンター培養において，SPG 膜散気管を用いてマイクロバブルを散気することで，回転数を抑えても溶存酸素濃度の低下を抑え，120 g/L を超える高密度培養ができた．

・*n*-ヘキサンを用いて，培養液から直接抽出する液液抽出により，DHA を約 40%含む脂質を回収することができた．

５　参考文献

1) 醸界タイムス 2023 年 3 月 31 日号
2) 熊本国税局 焼酎調査書(2022)
3) 水谷ほか:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 53, 99-104(2008)
4) 小玉ほか:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 61, 7-11(2016)
5) 日本国特許掲載公報, 特許第 6458314 号(2019)
6) 林雅弘:生物工学会誌, **93**-7, 426-429(2015)
7) R. Uauy, D.R. Hoffman *et al*: *Lipids*, **36**, 885-895(2001)
8) S.M. Innis:*J. Nutr*, **137**, 855-859(2007)
9) 小玉ほか:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 63, 1-6(2018)

バイオマス燃焼時に発生するクリンカの焼結程度定量に関する研究

大迫　貴太*1・赤﨑　いずみ*1

Study on the Quantification Method of Clinker Production Degree due to Biomass Combustion

Takahiro OSAKO and Izumi AKAZAKI

バイオマス燃焼時に発生するクリンカの防止対策を検討する上で，加熱により生じたクリンカの焼結程度を定量化することができれば，加熱温度や成分組成との比較評価に非常に有用である．本研究では，クリンカ焼結程度の定量化手法を検討し，県産木質バイオマスペレットから調製した焼結体（クリンカ）について焼結度の測定方法を考案した．測定した焼結度と加熱温度との比較から，本試験方法によりクリンカの焼結程度を定量化できることを明らかにするとともに，焼結程度と加熱温度の相関を明らかにした．

１　はじめに

近年，カーボンニュートラルなどの二酸化炭素排出量削減の観点から，バイオマス燃料の利用が注目を集めているが，バイオマスは燃焼により灰の塊状物である「クリンカ」が発生することが知られている．クリンカが発生すると炎の立ち消えや熱交換効率の低下など燃焼装置の安定運転を阻害し，その解消のためのクリンカ除去作業には多額の費用を要するなど，複合的な問題が生じる．

当センターではこれまでバイオマス燃焼時のクリンカ防止に関する研究を行い，バイオマスへ特定の化合物を添加することでクリンカを防止する手法を開発した[1)~3)]．同研究では複数のバイオマスにおいて，クリンカ防止効果を有する化合物を特定したものの，加熱温度といったクリンカの発生条件や，防止に関するメカニズムの解明には至ってはいない．これは，クリンカの発生程度を手触りにより定性的に評価していたことから，加熱温度および成分分析結果と，クリンカの発生程度の関係を評価できなかったためである．

クリンカ発生程度の評価において重要となるのは“バイオマスが所定の加熱条件でどれだけ溶融・固化したか”という焼結程度の評価であり，今後，より多様なバイオマスを燃料として利用する上で，燃焼によるクリンカの発生条件および防止条件を明らかにするニーズは一層高まると考えられ，その解明にはクリンカ焼結程度を定量化し，その燃焼条件や燃料の成分組成等との相関を評価することが必要となる．

そこで，本研究ではクリンカ焼結程度の定量化手法に関して検討を行い，クリンカの発生が報告されている県産木質バイオマスペレットを用いて焼結程度を評価し，加熱温度との関係を調査したので報告する．

２　実験方法

２－１　焼結度測定方法の検討

クリンカ焼結程度の評価方法として，これまで手触りによる崩れやすさを評価していたことから評価方法は破壊試験が適当と考えられた．

測定方法は知恵らの石炭焼結体におけるラトラ試験による膠着度測定方法[4)]をもとに検討を行った．

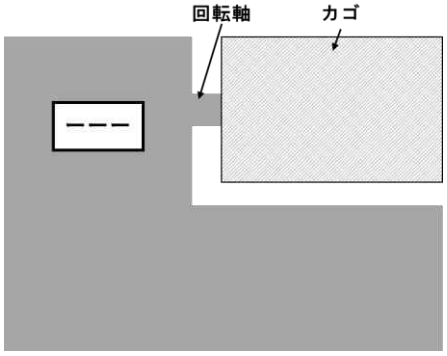


図１　ラトラ試験機模式図

＊1　資源環境部

ラトラ試験とは一般的に金属圧粉体の先端安定性を膠着度として測定する試験で，ラトラ試験機（図1）により測定される．カゴに入れたサンプルを回転により破壊・分離し，「膠着度＝（試験後にカゴに残った質量）／（試験前の質量）」と表され，知惠らは膠着度を石炭の焼結程度として評価していた．

ラトラ試験は回転カゴ中でサンプルの「破壊」と「分離」が行われる点に着目し，本研究では磁性ポット（外径 185 mm）による「破壊工程」（図 2）と，ふるいによる「分離工程」の 2 つの工程から焼結程度を評価する方法を考案した．

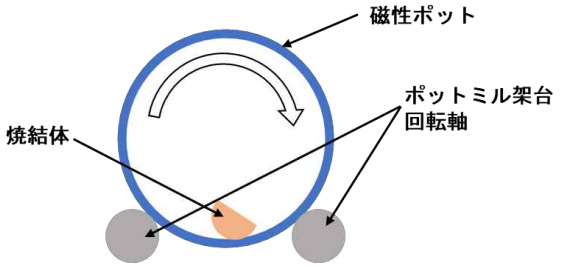


図 2　破壊工程概略図

クリンカを模して調製した焼結体を磁性ポット中で回転して破壊したのち，ふるいで分離して，破壊の程度から下式により焼結程度を評価した（試験条件は表 1 のとおりとした）．

$$\textit{焼結度[−]} = \textit{ふるい上質量[g]／破壊前の質量[g]}$$

表 1　焼結度試験条件

ポット回転速度[rpm]	110
ポット回転数[回]	1000
ふるい目開き[μm]	1180

以降本報では，この手法により測定される焼結程度を「焼結度」と表現することとする．焼結度の最大値は 1 で，1 に近いほどより溶融・固化の進んだ焼結体であることを意味している．

２－２　木質バイオマス焼結体の調製

焼結度の評価を行うサンプルの調製方法を検討した．バイオマスから効率的に焼結体を得るため，燃焼灰を電気炉にて加熱し，焼結体を調製することとし，燃焼灰は木質バイオマスペレットを電気炉で加熱することで調製した．

本焼結度測定方法では試験片の形状が結果に影響することから，焼結体の形状をそろえるため，加熱前に燃焼灰を成型することとした．成型には内径 30 mm の半球の型を使用し，型への充てん密度は燃焼灰のタッピング密度から決定した．また，既報[1)~3)]で用いたるつぼ等では焼き付きが起こり，回収の際に焼結体が崩れてしまうため（図 3），焼き付きの起こりにくいアルミナセッター上で焼結することとした．成型体の電気炉における加熱条件は表 2 に示す．

図 3　るつぼから取り出して崩れた焼結体

表 2　バイオマス燃焼灰焼結条件

焼結温度[℃]	1000, 1100, 1150, 1175, 1200
焼結時間[min]	120

なお，焼結体は各加熱温度で 3 つずつ調製し，各加熱温度における焼結度は 3 つの測定結果の平均とした．

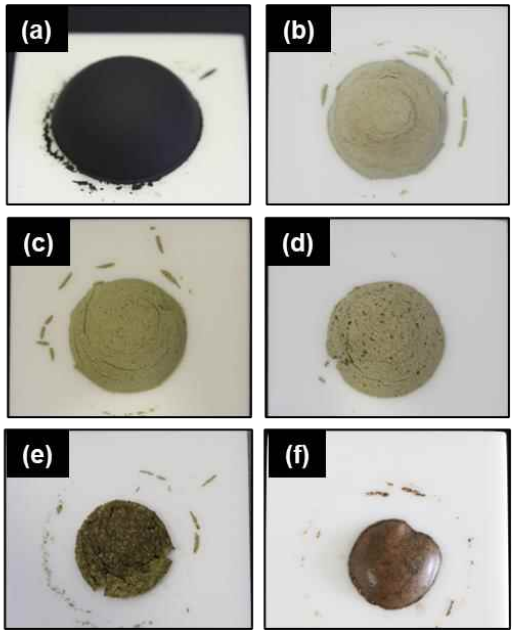
３　結果および考察

３－１　木質バイオマス燃焼灰の焼結体

木質バイオマス燃焼灰成型体（(a)）および成型体から調製した焼結体（(b)～(f)）を図 4 に示す．

調製後の焼結体は各温度で概ね同様の形状（半球形）をしており，加熱温度の上昇に伴い，収縮が大きくなっていることが確認できた．(b)～(e)までの焼結体はセッターへの焼き付きがなく，崩れることなく回収できたが，(f)は焼き付きがひどく，回収することができなかった．調製した焼結体の手触りによる焼結程度は表 3 のとおりとなった．

加熱温度 1100℃以下では焼結の程度は低かったが，1150℃以降は焼結の程度が高くなり，1175℃は回収できたものの強く焼結していた．



(a)：燃焼灰成型体　(b)：1000℃　(c)：1100℃
(d)：1150℃　(e)：1175℃　(f)：1200℃

図 4　木質バイオマス燃焼灰成型体および各加熱温度における焼結体

表 3　焼結程度（手触り）評価結果

加熱温度 [℃]	1000	1100	1150	1175	1200
焼結程度（手触り）	○	○	△	×	× 回収不可

焼結程度　○：手で簡単に崩すことができる
△：手で崩すことができる程度の焼結
×：手で崩すことができない焼結

３－２　焼結度の測定結果

各加熱温度における焼結体の焼結度測定結果は表 4 のようになった．

表 4　焼結度測定結果

加熱温度【℃】	1000	1100	1150	1175	1200
焼結度【－】	0.375	0.308	0.553	0.991	1

焼き付きがひどくセッターから回収できなかった加熱温度 1200℃の焼結度は 1 とした．手触りで焼結程度が低度と判断した加熱温度 1100℃以下は焼結度 0.4 未満，中度と判断した加熱温度 1150℃は焼結度 0.5 程度など，手触りでの評価と膠着度による評価は一致した．

次に，加熱温度と焼結度の相関を図 5 に示す．

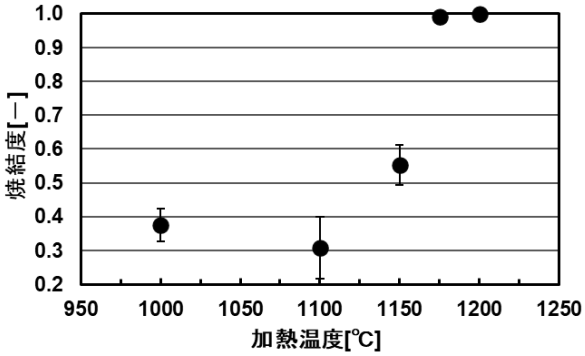


図 5　加熱温度と焼結度の相関

既報での加熱試験でも示されていたように，加熱温度の上昇に伴い，焼結度が上昇する傾向がグラフからも確認でき，以上から本試験方法でクリンカの焼結程度を評価できたと考えられる．

また，使用した木質バイオマスペレットについては，加熱温度 1150℃以上で急激に焼結度が上昇していた．既報 [1]によると，木質ペレット燃焼装置は火皿温度が 1250℃程度であり，燃焼温度を 100℃ほど下げることにより，クリンカの焼結程度を低減できる可能性が示唆された．

４　まとめ

クリンカの焼結程度を定量化するため，焼結度の測定方法について検討を行い，以下の知見が得られた．

1) 燃焼灰を成型後に加熱することで，形状が概ねそろった焼結体を調製できた．
2) 考案した焼結度測定方法によりクリンカ焼結程度を測定，評価することができた．
3) 使用した県産木質バイオマスペレットにおいては，焼結温度の上昇に伴い，焼結度は上昇し，特に 1150℃以降では急激に上昇した．

5　参考文献

1) 溝口進一, 竹田智和, 落合克紀, 嶋貫祐次, 久木﨑雅人:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 60, 5-8(2015)
2) 大迫貴太, 溝口進一, 赤﨑いずみ:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 65, 1-4(2020)
3) 大迫貴太, 赤﨑いずみ:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 66, 5-9(2021)
4) 知惠賢二郎, 茂田潤一:IIC REVIEW, 61, 8-12(2019)

油中ナノ粒子分散体中の水溶性物質の高濃度化に関する検討*

下池　正彦*1・赤木　剛*2・山本　建次*2・清水　正高*3・髙木　哲哉*2

Study on High Concentration of Water-Soluble Substances in Nanoparticle-in-Oil Dispersion

Masahiko SHIMOIKE, Takeshi AKAKI, Kenji YAMAMOTO, Masataka SHIMIZU
and Tetsuya TAKAKI

当県の特許技術を用いて調製される「油中ナノ粒子分散体」について，これまでに沸騰脱水法の発見や調製条件の検討について報告を行った．これらの報告においては W/O エマルション型前駆体の水溶性物質濃度として 1 wt%を基本条件とし，平均粒径 195 nm 以下の水溶性物質が油の中に分散された状態を実現できることを確認している．本報告ではより高濃度の水溶性物質を用いた分散体調製について検討を行い，基本条件の 10 倍以上の濃度であっても分散体調製が可能であること，また，油相中の界面活性剤濃度が調製における重要なファクターであることを明らかにした．さらに，モデル物質として用いたコラーゲンペプチドからなる分散粒子を油相から回収し，電子顕微鏡観察によってその姿を捉えることにも成功した．

1　はじめに

当県の特許技術である「油中ナノ粒子分散体の製造方法」（特許第 6582283 号）は，油に不溶の水溶性物質をナノオーダーで油の中に分散・配合する技術である．本技術は，希望する水溶性物質を溶解した水溶液と界面活性剤を溶解した油剤を混合して得られる W/O エマルションを前駆体とし，気泡発生を伴う沸騰脱水工程を経ることにより，平均粒径 195 nm 以下の分散粒子を得ることができる．エマルション調製と沸騰脱水という簡便な 2 工程でナノオーダーの分散状態を実現できる本技術は既に一部の分野で実用化が果たされており，今後も更なる活用が期待される．

既報[1),2)]においては，水溶性物質濃度 1 wt%，水相 : 油相比＝1 : 2 を基本条件として分散体調製に関する検討を行い，様々な水溶性物質，油剤，界面活性剤を用いて分散体を調製できることを報告した．これらの分散体は油相（または油剤）で希釈することが可能であり，水溶性物質濃度および水相の比率を高く設定できるほど，1 回の調製後の希釈操作のみで目的とする濃度の分散体を大量に得ることが可能となる．

一方，本技術の適用上限については未解明な部分も多く，水溶性物質濃度を高く設定した場合や水相の比率を高めた場合において，ナノオーダーの分散状態を実現できるかは明らかでなかった．第 1 報においては，水溶性物質濃度 1 wt%において分散体の平均粒径が 195 nm 付近にあり，その濃度を 2～3 倍としただけで容易に平均粒径の上限を超えることが予想された．また，第 2 報では高濃度化の一事例を示したが，その粒径は上限の近傍にあり，また，低濃度で調製した場合よりも粒径が小さくなるなど，更なる検証が必要であった．

このような困難が予想される油中ナノ粒子分散体の水溶性物質の高濃度化について，モデル物質としてスキンケアや健康食品などの分野で利用されているコラーゲンペプチドを用いて調製条件の検討を行い，基本条件の 10 倍以上の濃度であっても分散体調製が可能であることを明らかにし，さらには簡便な回収操作によって分散粒子を電子顕微鏡観察により捉えることにも成功したので，その結果を報告する．

＊　油中ナノ粒子分散体の調製技術に関する研究（第 3 報）
＊1　材料開発部（現　宮崎県衛生環境研究所）
＊2　材料開発部
＊3　元　材料開発部

2　実験方法

2－1　界面活性剤濃度の検討

水溶性物質としてコラーゲンペプチド（富士フイルム和光純薬㈱，酵素分解品，平均分子量 2000），油溶性界面活性剤としてポリグリセリン縮合リシノール酸エステル（阪本薬品工業㈱，CR-310），油剤として大豆油（富士フイルム和光純薬㈱）を用いた．水溶性物質濃度は基本条件の 10 倍である 10 wt%とし，水相：油相比は 1：2 から水相の比率をさらに高め 1：1 に変更した．また，水溶性物質の増加に伴う界面積の増大を考慮し，界面活性剤濃度を変化させて分散体調製を行った．乳化の条件を表 1 に示す．乳化処理はスターラー（㈱井内盛栄堂，HPS-100）かくはん下の油相に水相を滴下する予備乳化を行った後，ホモジナイザー（IKA, T25 digital ULTRA-TURRAX，シャフトジェネレーター S25N-10G）を用いて行った．乳化処理後の W/O エマルションは光学顕微鏡（㈱ニコン，エクリプス LV100TP-M62）を用いて観察した．

表 1　乳化条件

水相	10 wt%-コラーゲンペプチド水溶液
油相	CR-310／大豆油
活性剤濃度	1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 wt%
水相：油相	1：1（重量比）
乳化	①予備乳化:スターラーかくはん 1.5 krpm ②ホモジナイズ処理（計 3 回繰り返し） 7 krpm, 1min → 15 krpm, 1 min → 24 krpm, 0.5 min

次に，乳化で得られた W/O エマルションを PTFE 製沸石（Saint-Gobain）とともにナスフラスコに移し，ロータリーエバポレーター（IKA, RV10 control）を用いて表 2 の条件で脱水した．

表 2　脱水条件

回転数	150 rpm
水浴温度	60℃
減圧脱水	予備脱気：20 kPa，15 min 脱水①：9 kPa，分散体透明化まで 脱水②：5 kPa，気泡発生終了まで

なお，脱水工程においては，白濁した W/O エマルションが脱水の進行に伴い徐々に透明となり，さらに脱水を進めると再び濁りを呈する現象が認められることを補足する（図 2 参照）．

得られた分散体の平均粒径は動的光散乱光度計（大塚電子㈱，ELSZ-2）を用いて測定し，25℃においてガラスセルを用いて行った．1 測定 70 回積算を 10 回繰り返して温度の均一化を図った後，1 測定 700 回積算を 3 回繰り返し解析用のデータを得た．粒径解析には従前のとおり CONTIN 法を用い，散乱強度分布の 50%径を平均粒径とした．なお，界面活性剤濃度の異なる 7 サンプルであるため，溶媒条件および水溶性物質濃度が同じとなるよう，油剤や油相を用いて分散体原液を希釈して測定を行った．

2－2　水溶性物質濃度の検討

表 1 の条件において界面活性剤濃度を 50 wt%に固定し，水相の濃度を 10～40 wt%まで 5 wt%ずつ変化させ，分散体の調製および平均粒径の測定を行った．なお，使用したコラーゲンペプチドは 40 wt%までは透明な溶解状態を呈したが，45 wt%の水溶液は懸濁状態となり，5 wt%の刻みにおいては 40 wt%が最大溶解量であると判断した．

2－3　電子顕微鏡観察

調製した分散体を 1.5 ml マイクロチューブに 0.1 ml サンプリングし，1 ml のヘキサンで希釈・洗浄した後，遠心分離（アズワン㈱，MF-12000）を 6900 G, 3 min 行い分散粒子を沈降させた．沈殿をヘキサン 1 ml で再分散後，遠心分離を行う操作を 3 回繰り返した後，沈殿をヘキサン 0.1 ml で再分散した．この数滴をカバーガラスに展開した後，速やかに白金-パラジウムコート処理を行い，電子顕微鏡（㈱日立ハイテクノロジーズ，S-4800）観察に供した．

3　結果および考察

3－1　界面活性剤濃度の検討結果

界面活性剤濃度を 1～50 wt%に変化させて調製した予備乳化後の W/O エマルションの光学顕微鏡像を図 1 に示す．活性剤濃度以外は同一条件であるが，低濃度では分散滴の粗大化が顕著である一方，高濃度では分散滴の識別が困難な程度までに微細化し，ホモジナイズ処理後はさらに微細化が顕著となった（図 1 右下）．

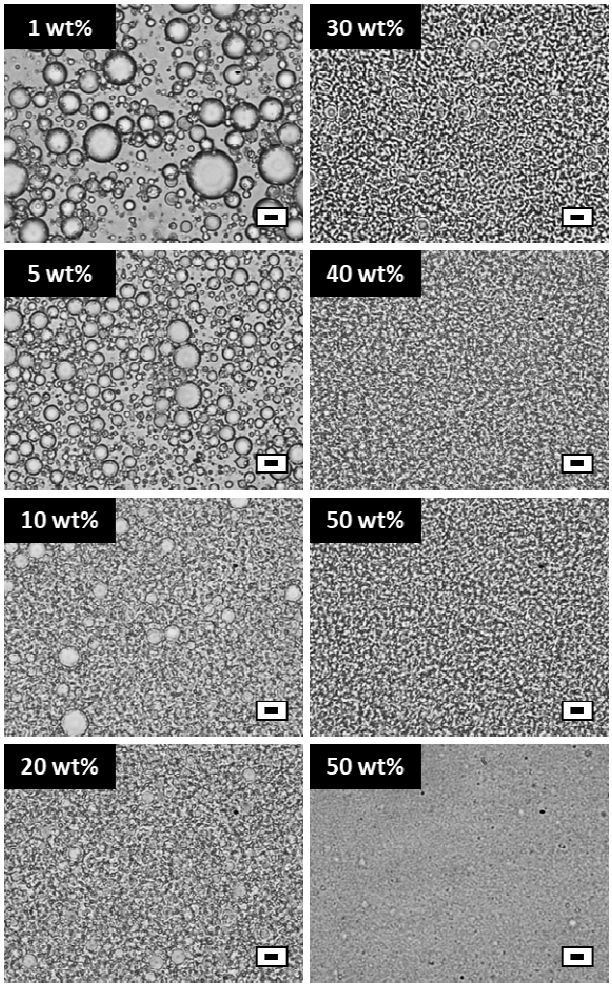


図 1　予備乳化後の W/O エマルション
（右下はホモジナイズ処理後，スケールバー：5 μm）

ここで，活性剤濃度 50 wt%の系について考えると，水相：油相比＝1：1 であるが，油相の半分は活性剤であるため，水相は油剤（大豆油）の 2 倍量存在していることになる．このような水相に富む系においても乳化系が崩壊することなく W/O の状態を維持することが可能であった．なお，本報告では割愛するが，この傾向はコラーゲンペプチド以外の水溶性物質を用いた場合においても同様であった．

次に，一例として 50 wt%系の脱水工程の経時変化を図 2 に示す．予備脱気後，9 kPa まで減圧し，沸騰を伴う激しい脱水を継続すると，前述のとおり白濁した W/O エマルションが徐々に透明となり，気泡発生終了まで完全に脱水すると再び濁りを呈した．この現象は，分散相である水溶液が濃縮されることに伴い，分散相の屈折率が連続相の屈折率に近づき，さらに脱水を継続すると，再びそれらの屈折率の差が大きくなることに由来するものであると考えられる．

調製した分散体はいずれも脱水工程の途中で透明な状態を経由したが，透明化後の濁りの程度については活性剤濃度が高いほど抑制される傾向にあり，屈折率の影響ではなく，後述する分散粒子の平均粒径が分散体の外観に影響を及ぼしているものと考えられた．濁りの程度が分かりやすいように水溶性物質濃度が約 1 wt%，溶媒条件が 5 wt%の界面活性剤を含む油相となるように油相および油剤で希釈した分散体の外観を図 3 に示す．活性剤濃度 30 wt%を境として白濁した状態から透明な状態へと変化していることが分かる．

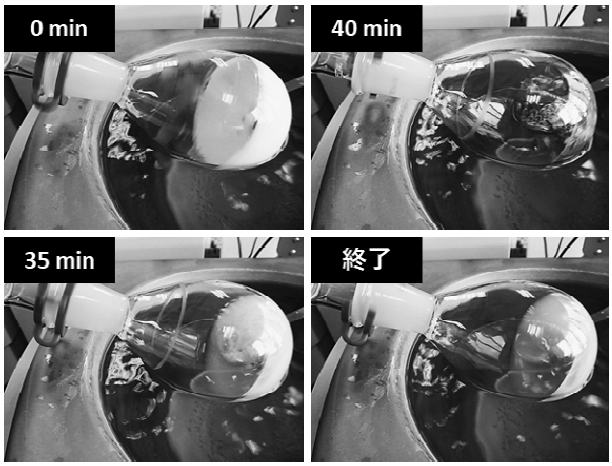


図 2　脱水工程の経時変化（界面活性剤濃度 50 wt%）

図 3　調製した分散体の外観
（左から界面活性剤濃度 1，5，10，20，30，40，50 wt%）

得られた分散体の平均粒径を動的光散乱法により測定した結果（3 測定の平均値）を図 4 に示す．粗大な液滴が認められた低濃度側ほど脱水後の分散粒子の平均粒径が大きく，活性剤濃度 20 wt%以上で粒径の上限である 195 nm（図 4 中破線）を下回った．活性剤濃度 50 wt%において，平均粒径は約 90 nm となり，図 3 で示した透明な外観は分散粒子

が 100 nm を下回る程度にまで微細化されたことに起因するものであると考えられた．また，この結果より，油中ナノ粒子分散体の粒径は界面活性剤濃度によって制御可能であると考えられた．

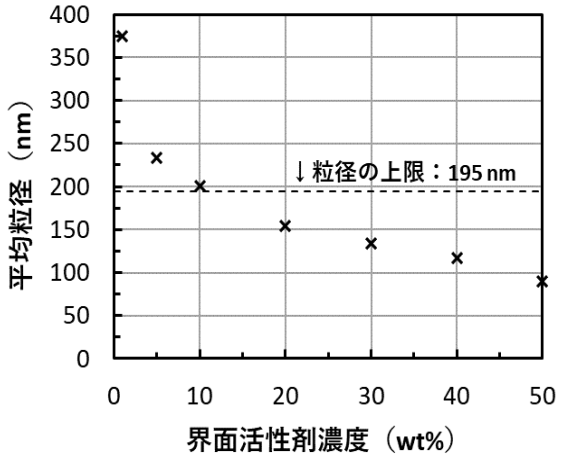


図 4　界面活性剤濃度による平均粒径の変化

動的光散乱法による粒径の評価に加えて，油相中に存在する分散粒子を洗浄・回収し，電子顕微鏡観察に供した結果（倍率 3 万倍）を図 5 に示す．球状の分散粒子が無数に存在する様子が捉えられ，活性剤濃度の増加に伴う平均粒径の低下を支持する観察像が得られた．活性剤濃度 50 wt%で得られた分散粒子の 10 万倍の観察像は図 5 右下に示すとおりであり，100 nm を下回るサイズの分散粒子であっても，回収操作に伴う崩壊などの影響を受けることなく，粒子間の境界が明瞭な観察像が得られている．なお，補足として，この観察している粒子については FT-IR 測定を行い，タンパク系物質のスペクトルが得られることを確認している．今回の実験系においては水溶性物質として用いたコラーゲンペプチドのみがこれに該当するものである．また，水溶性物質として糖鎖や水溶性ポリマーなどの複数成分を混合して用いた場合においても同様の観察と各成分の混合スペクトルが得られることを確認しており，分散粒子の「見える化」に関する知見が蓄積されつつある．

このように，油中ナノ粒子分散体の調製における水溶性物質の高濃度化に関しては，油溶性界面活性剤濃度の増加が有効であることが明らかとなった．なお，活性剤濃度の更なる増加については，W/O エマルションの粘度上昇による予備乳化の失敗や水相過多による乳化系崩壊の可能性が高まるため，推奨するものではない．

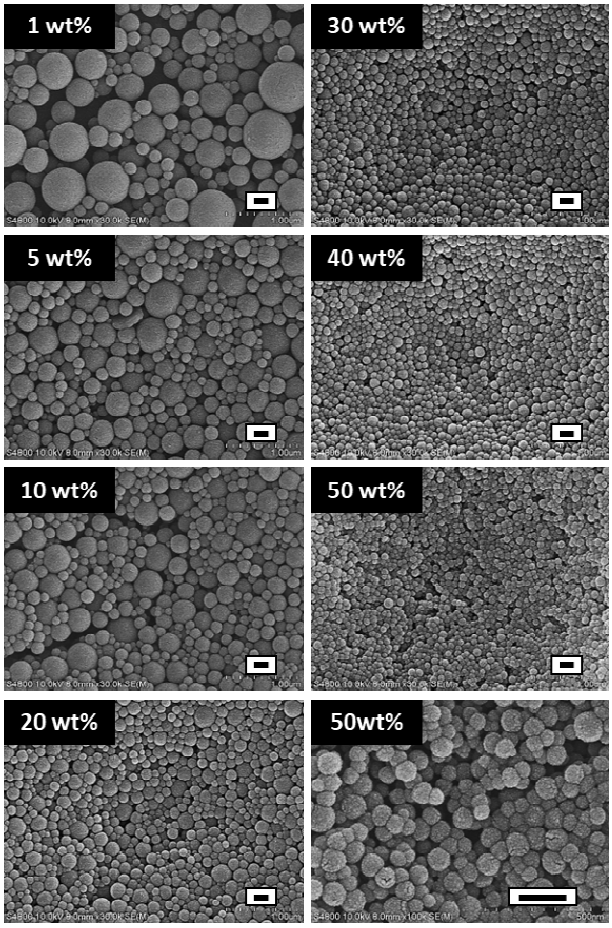


図 5　分散粒子の電子顕微鏡像（倍率：3 万倍）
（右下は 10 万倍，スケールバー：200 nm）

３－２　水溶性物質濃度の検討結果

界面活性剤濃度を 50 wt%に固定し，水溶性物質のモデル物質として用いたコラーゲンペプチドの濃度を 10～40 wt%まで変化させて調製した分散体の平均粒径を図 6 に示す．前述のとおり，水溶性物質濃度 10 wt%において平均粒径は約 90 nm であり，濃度 20 wt%以上の高濃度な領域においても、粒径の上限である 195 nm よりも微細な平均粒径 120～130 nm を示した．

ここで，単分散を仮定して濃度 10 wt%における分散粒子数を計算し，その粒子数が一定の下，水溶性物質の重量増加によって粒径が肥大化するモデルを考える．このモデルにおいては粒子数の基準として設定した濃度における水溶性物質の重量 W_0 と粒

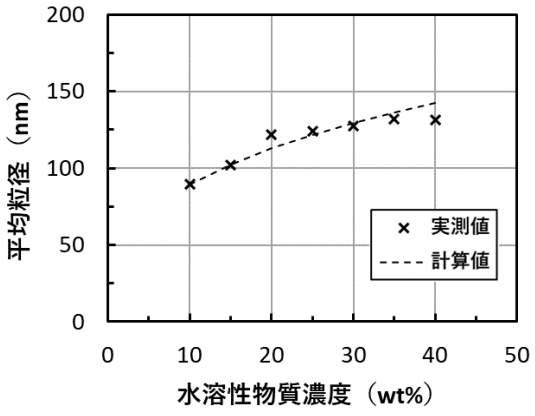


図 6　水溶性物質濃度による平均粒径の変化

径 D_0 のほか濃度 i における水溶性物質の増分 ΔW_i（$=W_i-W_0$）から(1)式によって肥大化後の粒径 D_i が算出される．

$$D_i = \left(1 + \frac{\Delta W_i}{W_0}\right)^{1/3} D_0 \qquad (1)$$

非常に単純なモデルではあるが，粒径変化を計算した結果は図 6 の破線で示すとおりであり，今回の実験結果はこれと概ね一致した．このことは界面活性剤濃度やその他の調製条件を同じとする乳化・分散系において生成可能な液滴・粒子数に上限があることを示唆するものであり，ナノオーダーの分散系においてこの現象が観測されたことは興味深いものである．なお，実際には水溶性物質濃度の増加に伴い，分散相の初期粘度が増大するなど，粒子数の変動要因は存在するものと考えられる．このことについては今後更なる検証が必要であるが，少なくとも今回の検討においては，水溶性物質濃度の増加が分散体の粒径を容易に 2 倍も 3 倍もするものではないという高濃度分散体調製にとってポジティブな結果を示すことができた．調製で得られた分散体の外観（図 3 と同じ条件となるよう希釈）は図 7 に示すとおりであり，いずれも透明感を呈していることから粒径計測の妥当性が支持された．

図 7　調製した分散体の外観

（左から水溶性物質濃度 10，15，20，25，30，35，40 wt%）

最後に，得られた分散体から回収した分散粒子の電子顕微鏡像（倍率 5 万倍）を図 8 に示す．水溶性物質濃度の増加に伴う粒径の顕著な肥大化は電子顕微鏡像でも認められなかった．

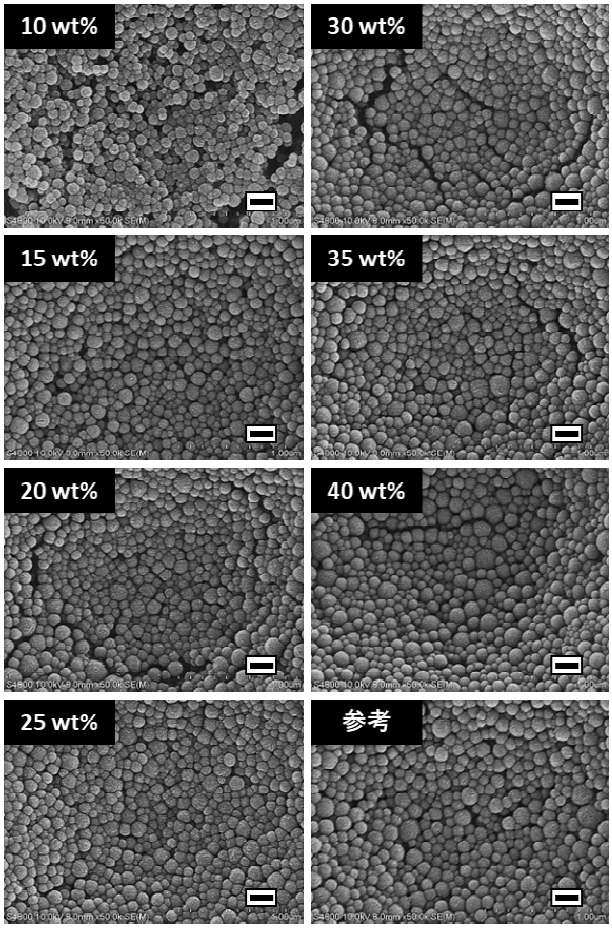


図 8　分散粒子の電子顕微鏡像（倍率：5 万倍）

（参考は界面活性剤濃度 30 wt%で調製した水溶性物質濃度 10 wt%系，スケールバー：200 nm）

4　まとめ

油中ナノ粒子分散体の調製技術の適用上限の検証を目的としてコラーゲンペプチドをモデル物質として水溶性物質の高濃度化に関する検討を行った結果，次の知見が得られた．

1)　油溶性界面活性剤濃度が高いほど，同一の機械力を付与した乳化処理における液滴の微細化が顕著であった．

2) 界面活性剤濃度の上昇に伴い，油剤に対する水相の比率は増加するが，今回使用したポリグリセリン縮合リシノール酸エステルを界面活性剤として用いる限りにおいては，油剤の 2 倍程度の水相を含む条件であっても安定した W/O エマルションの調製が可能であった.

3) 乳化処理が問題なく行える限りにおいては，界面活性剤濃度が高いほど得られる分散体の平均粒径が低下する傾向が認められ，基本条件の 10 倍以上の水溶性物質濃度であっても，195 nm 以下の分散体調製が可能であった.

4) 分散体の平均粒径が 100 nm に近づくにつれて，脱水後の分散体が透明感を呈するようになり，外観の目視確認による分散粒子のサイズ推定が可能となる見通しが得られた.

5) 油相中に存在する分散粒子はヘキサン洗浄や遠心分離などの簡便な操作で回収が可能であり，動的光散乱測定の結果を支持する観察像を得ることができた.

6) 水溶性物質濃度の上昇に伴い，分散粒子の粒径は増大する傾向にあったが，増大の程度は緩慢であり，モデル物質として用いたコラーゲンペプチドにおいては濃度 40 wt%であっても分散体の粒径の上限を超えることはなかった.

一般的に分散系の高濃度化は難しいことが知られているが，当県の特許技術に関しては，比較的容易にこの問題をクリアできる見通しが今回の検討により得られた．これらの知見は，低濃度でも効果を発揮し，かつ，極めて水に溶けやすい水溶性の有効成分をオイルベースの剤形で製品化する際などに特に有用であると考えられ，高濃度分散体調製からの希釈操作という簡便で効率的な製造の道が開かれる可能性がある．また，分散粒子の「見える化」（電子顕微鏡観察）に関しては，コラーゲンペプチド以外の水溶性物質を単一または複数で用いた場合においても観察像が得られており，油系溶媒におけるナノサイズ微粒子の評価が光散乱以外の方法でも可能になりつつある.

今回の検証においては，最大で濃度 40 wt%の水溶性物質を油中に分散できることを示すことができ，特許技術のポテンシャルの高さを示すことができた．今後も特許技術の普及をはじめ，分散系に関する知見をさらに蓄積し，新たな独自技術の開発に取り組んでいく.

5 参考文献

1) 濵山真吾, 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, 濵山真吾, 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)

円形孔と矩形孔を介して噴出生成した均一液滴の違い

清水　正高*1・鳥越　清*1

Differences between Uniform Droplets Generated by Jetting thorough Circular and Rectangular Hole

Masataka SHIMIZU and Kiyoshi TORIGOE

幅 10 μm，長さ 50 μm の矩形孔を介して分散相を加圧噴出させた結果，円形孔よりも粒径がよくそろった分散相粒子を生成できた．この方法は，油水，水油，気水および水気分散系，さらには油中液体金属分散系など，さまざまな組み合わせの分散系にも有効であった．噴出した液柱や気柱に対する表面・界面の規則的な振動に矩形孔由来のねじり効果が相乗したためと推測され，新たな粒子形成技術の創出が期待できた．一方，分散相噴出条件，表面・界面張力や相粘度の影響など，今後解明すべき因子が多く，また，矩形孔以外にもより良好な非円形形状の存在が予想された．

1　はじめに

既報[1]において，直接膜乳化により単分散エマルションが生まれるメカニズムは，Rayleigh の液柱分裂理論に基づく液滴形成に由来すると提案した．しかし，過去の液柱分裂研究[2]は mm オーダー以上のマクロな流体を対象としており，我々の研究領域であるミクロ領域や非常に低い界面張力の乳化系において正しく成立しているのか疑問が残った．

一方，近年発展している微細放電加工機などを用いると各種金属にミクロンサイズの貫通孔を作製することができる．そこで数十 μm サイズの矩形孔を貫通させた単一孔円板を入手し，これを介して分散相を加圧噴出させ，連続相に分散させる試験を行った．油水，水油，気水および水気分散系，さらには油中液体金属分散系などさまざまな組み合わせを試したところ，いずれも矩形孔から安定した液柱あるいは気柱が生成した場合，その先端より比較的粒径のそろった油滴，水滴，気泡，ミスト，液体金属粒子が噴出生成することを見いだした．一方，円形孔では矩形孔ほど粒径のそろった上記粒子を生成することが難しいことも判明した．

本報では，不明な多くの噴出条件については後の研究に譲り，矩形孔を介して分散相を連続相に噴出分散させる単純なシステムによって，粒径のそろったさまざまな分散相粒子が生成する現象のみを明らかにしたので報告する．

2　実験方法

微細放電加工機を用いて厚さ 500 μm のステンレス SUS 円板に幅 10 μm，長さ 50 μm の矩形孔，ならびに，その矩形孔と断面積がほぼ同じ孔径 25 μm の円形孔を有する単一孔円板を清本鐵工㈱より入手した．単一孔円板の外観と矩形孔の光学顕微鏡写真を図 1 に示す．

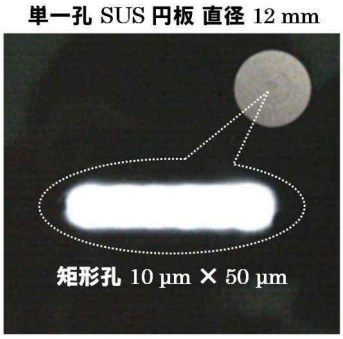


図 1　単一孔円板の外観と矩形孔の光学顕微鏡写真

分散相側を加圧できる自作モジュールに酸洗浄した単一孔円板を O-リングで密封固定し，実験を行った．図 2 に示すように，水油，水気および油中液体金属分散系では液柱を垂直に落下させ，油水および気水分散系の場合は連続相液側にモジュールを沈

*1　元　材料開発部

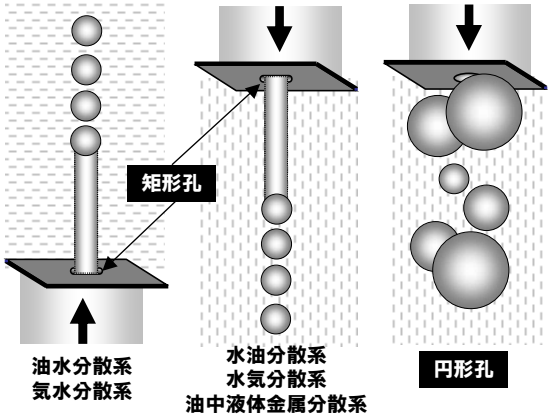


図 2　各分散系における粒子生成方向と円形孔実験

めて垂直に浮上させた．

実験に供した各相の組み合わせを表 1 に例示する．水性界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウム SDS 濃度は 0.5 wt%，油性界面活性剤のポリグリセリン縮合リシノレイン酸エステル PGCR 濃度は 0.5 wt%であった．液体はすべて 0.2 μm のフィルターで浮遊ゴミを除去した．油中液体金属分散系には低融点金属 U-alloy 70（(株）ニラコ，融点 70℃）を使用した．

表 1　各分散系における相の組み合わせ

分散系	粒子名	分散相	連続相
油水	油滴	灯油	水＋SDS
水油	水滴	水	灯油＋PGCR
気水	気泡	空気	水＋SDS
水気	ミスト	水	空気
油中液体金属	金属粒子	U-alloy 70*	大豆油＋PGCR

* 低融点金属が溶ける 80 ℃に加温して実験した．

3　実験結果

本報では，生成した各種粒子の粒径を適切に計測する手段を確立していなかったため，また，分散相の孔噴出速度，表面・界面張力，相粘度などの影響因子に関する解析が困難であったため，現象論的な実験結果のみを示した．

油水分散系で生成した油滴および油中液体金属分散系で生まれた金属粒子の光学顕微鏡写真を図 3 に示す．矩形孔を使い図 2 に描写したような液柱が形成される条件では，油滴で 50～60 μm，金属粒子で 25～30 μm の比較的均一な粒子が継続して得られた．また，他系の気泡や水滴の場合も粒子径は異なるが同様であった．

一方，液柱が生成しない孔噴出速度が低い場合は，図 2 の円形孔と類似した大幅に不ぞろいな粒子が形成された．

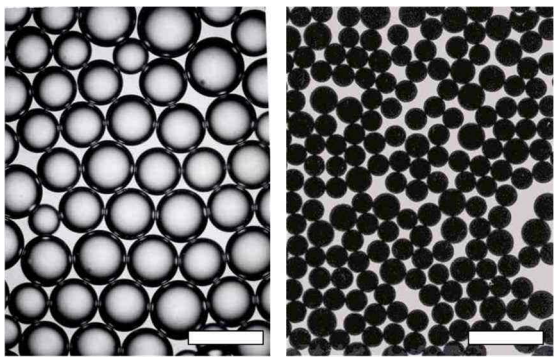


図 3　矩形孔噴流によって生成した油滴（左）と低融点金属粒子（右）の光学顕微鏡写真
スケールバーは 100 μm

4　考察

矩形孔が均一粒子形成に有効な理由としては，噴出した液柱や気柱に対する Rayleigh が示した表面・界面の乱れによる規則的な振動と，図 4 のモデル図にある矩形孔由来の「ねじり効果」が加味されたためと推測される．どの分散系でも同様な現象が見られ，新たな粒子形成技術の創出が期待できる．しかし，矩形孔を介した分散相噴出条件，表面・界面張力や相粘度の影響など，今後解明すべき因子は多い．矩形孔だけではなく，均一粒子生成に適したより効果的な非円形形状が存在することも考えられる．

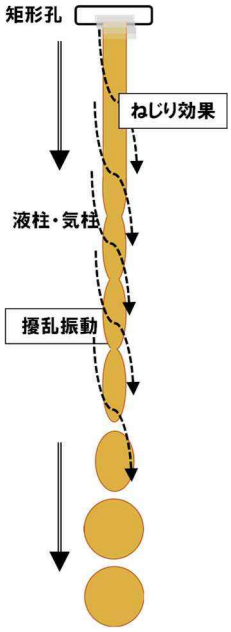


図 4　矩形孔由来のねじり効果が加わった液柱および気柱の均一分裂モデル

5　参考文献

1) 清水正高：宮崎県工業技術・食品開発センター研究報告，No.65，5-8(2021)
2) 高橋照男，北村吉朗：化学工学，**35**-6，637-642(1971)

電解硫酸技術を活用した屋外で白化しにくいアルミ合金製品と表面処理装置の開発*

山本　建次*1・永井　達夫*2・田上　兼輔*1・河野　拓人*3・柳　洋介*2

Development of Aluminum Alloy Products with Excellent Corrosion Resistance and Equipment for Surface Treatment Using Electrolyzed Sulfuric Acid Technology

Kenji YAMAMOTO, Tatsuo NAGAI, Kensuke TANOUE, Takuto KAWANO and Yosuke YANAGI

アルミ合金製品を屋外で使用した際に発生する表面の白化（腐食の初期段階を示す白い斑点）を抑制することを目的として，アルミ合金の耐食性を向上させる新しい陽極酸化処理技術および封孔処理技術の開発に取り組んだ．その結果，これらの技術開発に成功し，アルミ合金の白化寿命（白化に至るまでの期間）を延長することができた．また，本技術の事業化の推進に必要な表面処理装置（パイロット設備）の開発にも成功した．

１　はじめに

アルミ合金製品の多くは，腐食を抑制するための表面処理（陽極酸化処理による酸化皮膜の形成）が施されているが，それにも関わらず，屋外使用後わずか１年程度で表面が白化するという課題を抱えている．この課題解決に向け，筆者らは，白化箇所付近の詳細な観察を実施し，白化が材料表面の浸食により起こったものであることを予め把握していた．すなわち，アルミ合金の耐食性の不足が示唆されていた．

そこで，本研究では，アルミ合金の耐食性の向上を目的として，密な構造の酸化皮膜を形成させるための陽極酸化処理技術の開発および材料表面の微小クラックを低減させるための封孔処理技術の開発に取り組んだ.その結果,これらの技術開発に成功し，アルミ合金の白化寿命を延長することができた．また，本技術を実製品に応用するための表面処理装置の開発にも並行して取り組み，事業化の推進に必要なパイロット設備を開発できたので，併せて報告する．

＊　令和元～3 年度経済産業省戦略的基盤技術高度化支援事業
＊1　材料開発部
＊2　ミクロエース株式会社
＊3　材料開発部（現　宮崎県総務部危機管理局消防保安課）

２　実験方法

２－１　電子顕微鏡によるサンプル評価技術の開発

陽極酸化処理後のアルミ合金の表面は，自然酸化による皮膜に覆われており（図 1），そのままの状態では観察することができない．そこで，観察の前処理として，表面研磨，金属刃での切削，ダイヤモンド刃での切削，以上 3 通りの方法による自然酸化皮膜の除去を試みた．

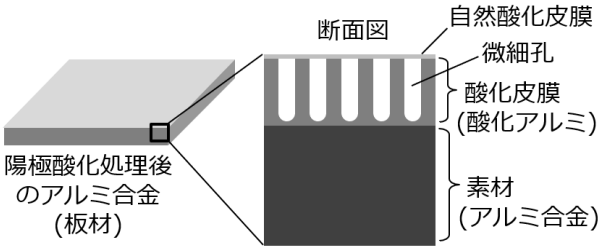


図１　陽極酸化処理後のアルミ合金の構造（イメージ）

次に，前処理後のサンプルを電界放出形走査電子顕微鏡（㈱日立ハイテクノロジーズ，S-4800）により，20 万～40 万倍の観察像を取得し，微細孔の平均孔径（100 個以上の算術平均）と孔密度（1 μm² 当たりの微細孔数）を計測し，微細孔が材料に占める割合（これを「空隙率」と定義）の算出を試みた．

また，従来のアルミ合金製品の表面に微小クラッ

クが多数存在していることを予備試験で把握しており，クラックの定量的な評価が必要と考えられたため，電子顕微鏡による 10 万倍の観察像を基に微小クラック個々の長さを計測し，1 μm² 当たりの長さの和（これを「クラック長さ」と定義）の算出を試みた．

２－２　酸化皮膜の空隙率および表面クラックを低減させるための技術開発

アルミ合金の耐食性を向上させるため，密な構造の（空隙率の低い）酸化皮膜の形成および材料表面の微小クラックの低減，以上 2 つの技術開発に取り組んだ．

まず，空隙率の低減については，陽極酸化処理に電解硫酸を用いる方法[1,2]を選択した．これは，陽極酸化処理がアルミ合金を酸（一般的には，硫酸）の入った処理槽に浸漬し，通電させた際のアルミニウムの溶解速度と溶出したアルミニウムの酸化速度のバランスで成り立っている[3]ことから，酸化力の強い電解硫酸を用いた方が有利（密な構造の酸化皮膜を形成できる）と考えられたためである．空隙率の目標値を 4.9%以下に設定し，小規模実験設備（処理槽容量 25 L）を用いた実験により，空隙率を低減できる条件の探索を行った．

次に，表面クラックの低減については，酸化皮膜と素材（下地のアルミ合金）の熱膨張差を小さくした方が有利であると考え，従来の 145℃よりも低温領域での水蒸気封孔処理を試みた．

また，これらの技術開発により得られるアルミ合金の白化寿命の目標値を 5 年以上とした．白化寿命の推定には，独自の耐酸性試験（サンプル表面への pH4 の酸滴下・乾燥を白化が起こるまで繰り返し行う方法）を用いることとし，従来技術のサンプルが白化に至るまでの滴下回数を「白化寿命 1 年」と定義した．

２－３　パイロット設備の作製および実生産設備への適用

開発した技術のスケールアップを図るため，中規模のパイロット設備（処理槽容量 200 L）の設計および作製を行った．さらに，早期事業化につなげるため，パイロット設備の電解セル等（電解硫酸の製造供給部分）を実生産設備（処理槽容量 3300 L）に接続し，試運転および新製品の試作を行った．

３　結果および考察

３－１　電子顕微鏡による空隙率およびクラック長さの計測技術の確立

前処理のうち，表面研磨および金属刃での切削では，自然酸化皮膜下の微細孔の確認には至らなかった．これは，処理の過程で微細孔が潰れた，または切削くずで埋まったためと考えられる．その一方で，ダイヤモンド刃で切削したサンプルについては微細孔を確認することに成功し（図 2），平均孔径，孔密度および空隙率の計測・算出が可能となった．

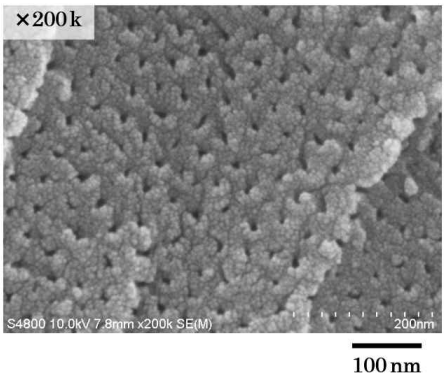


図 2　ダイヤモンド刃による切削後サンプル表面の電子顕微鏡写真

また，電子顕微鏡の観察像を基に，割れ幅 5～20 nm 程の微小クラック個々の長さを計測することができ，クラック長さの算出も可能となった．

３－２　酸化皮膜の空隙率および表面クラックの低減

小規模実験装置で実施した陽極酸化処理実験の主な結果を表 1 に示す．

硫酸を使用した従来技術サンプルの平均孔径が 19.3 nm であったのに対し，電解硫酸を使用した本研究サンプルは，いずれも 14 nm 以下に縮小されていた．これは，電解硫酸の酸化力が強く，酸化皮膜の骨格（微細孔の脇の壁部分）の形成が速く起こっ

表 1　陽極酸化処理実験の主な結果

検体名	陽極酸化	平均孔径 (nm)	孔密度 (個/μm²)	空隙率 (%)
従来技術(例)	硫酸	19.3	558	16.3
本研究①	電解硫酸	12.7	750	9.5
本研究②	電解硫酸	14.0	456	7.0
本研究③	電解硫酸	13.0	344	4.6

たためと考えられる．その一方で，本研究①に示すとおり，平均孔径が従来技術に比べて縮小されたのに反し，孔密度が増加する傾向が見られたため，以後，硫酸濃度，電流密度，温度等の条件を変えながら実験を進めた．その結果，本研究②および③のとおり，平均孔径と孔密度の低減を両立でき，最終的に空隙率 4.6%を達成した．

従来の 145℃の水蒸気封孔処理後サンプルではクラック長さが 3.45 μm/μm² であったのに対し，低温水蒸気封孔処理後サンプルでは 0.63 μm/μm² に低減されていた（図 3）．耐酸性試験の結果，従来技術のサンプルが滴下 36 回（これを白化寿命 1 年と定義）であったのに対し，本研究のサンプルでは滴下 245 回（推定白化寿命 6.8 年）に達した．すなわち，電解硫酸陽極酸化処理および低温水蒸気封孔処理が耐食性の向上に有効であることを確認できた．

３－３　パイロット設備の完成および実生産設備による新製品の試作

作製したパイロット設備の外観を図 4 に示す．パイロット設備の電解セル等を実生産設備に接続した後，試運転を兼ねてアルミ合金の陽極酸化処理を実施した．その結果，小規模実験設備で作製したサンプルと同等以上の耐食性(耐酸性試験で滴下 360 回，推定白化寿命 10 年)を有する新製品を試作できた．すなわち，事業化に必要なスケールアップに成功した．

４　まとめ

電解硫酸を使用した陽極酸化処理により，密な構造の酸化皮膜の形成に成功し，さらに，水蒸気封孔処理を低温で実施することにより，材料表面の微小クラックを低減することができた．その結果，アルミ合金の耐食性が向上し，白化寿命の延長につながった．併せて，電解硫酸技術を搭載したパイロット設備の作製および実生産設備への接続が完了し，事業化の準備が整った．

５　謝辞

本研究の成果は，令和元年度～3 年度の経済産業省戦略的基盤技術高度化支援事業（サポイン事業）により得られたものである．記して謝意を表す．

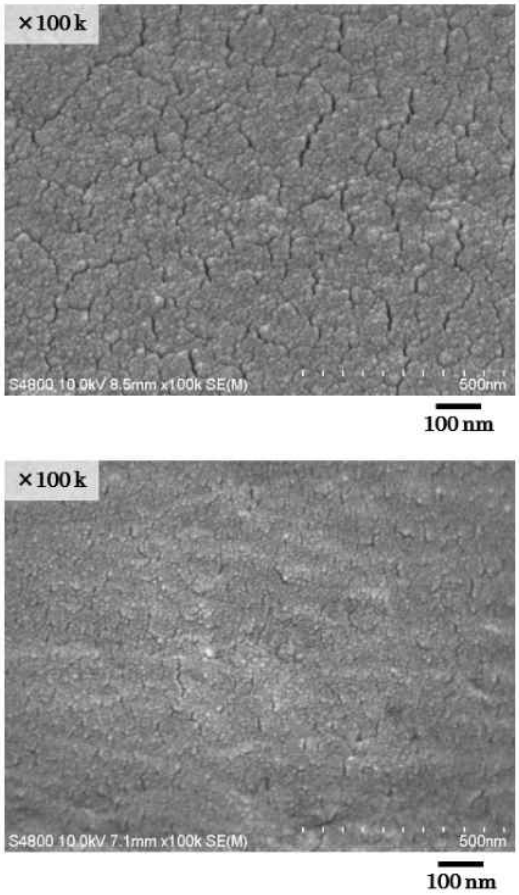


図 3　水蒸気封孔処理後サンプル表面の電子顕微鏡写真
上：145℃処理，下：低温処理

図 4　パイロット設備の外観

６　参考文献

1) 永井達夫，山本裕都喜，坂本幸弘:材料の科学と工学, **53**-2, 64-67(2016)
2) 永井達夫，山本裕都喜，坂本幸弘:材料の科学と工学, **53**-3, 94-99(2016)
3) 永井達夫，松原浩二，酒井尚樹:材料の科学と工学, **58**-4, 150-151(2021)

調湿液を用いた気液接触法に関する研究

小野　貴哉*1・陰山　翼*2・田河　智章*3

Study on gas-liquid contact method using humidity control liquid

Takaya ONO, Tsubasa KAGEYAMA and Tomoaki TAGAWA

既報[1)]で開発した結露防止システムの応用展開を図るため，空間中の湿度を調整する気液接触法の技術を確立するための技術蓄積を行った．具体的には，簡易結露防止システムを用いた結露防止環境実験および気液接触フィルタ性能実験を実施した．その結果，結露防止環境実験では，調湿液のポンプ流量や気液接触フィルタの違いにより，除湿時間に違いがあることが確認された．また，気液接触フィルタ性能実験では，流体解析に関する技術蓄積を図ることができた．

１　はじめに

当センターではこれまで，調湿液を用いた湿度コントロール技術に着目し，0～10℃程度で低温管理された食肉加工施設内の天井面に発生する結露水滴を消失させるため，調湿液を用いた結露防止システムを開発し，県内の食肉加工施設で実証実験を行った．その結果，結露水滴の消失が確認され，結露防止システムが低温環境における結露水滴消失に効果があることが明らかになった[1)]．

一方，結露防止システムは，様々なフィールドに対応できるシステム開発に至っておらず，調湿液のポンプ流量や気液接触フィルタの違いによる除湿能力の把握ができていなかった．

そこで本研究では，簡易結露防止システムを用いた結露防止環境実験および流体解析を用いた気液接触フィルタ性能実験を行ったので報告する．

２　実験方法

２－１　結露防止環境実験

実験は，図１に示す低温環境ユニット（エスペックエンジニアリング㈱，HRF-22）内に農業用ビニールハウスと簡易結露防止システムを設置（図2）し，低温環境ユニット内部を 5℃の低温環境に設定し，農業用ビニールハウス内で結露を発生させた．その後，簡易結露防止システムを稼働させ，低温環境内での結露の状況および湿度の変化を測定した．

図１　低温環境ユニット

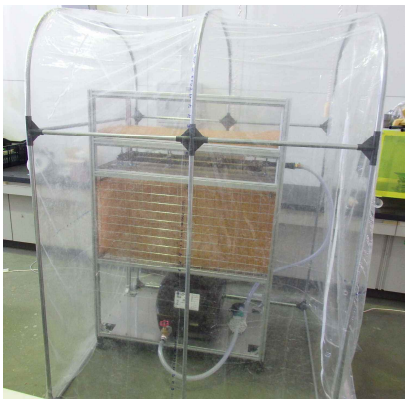


図２　農業用ビニールハウスと簡易結露防止システム

＊1　機械電子部（現　宮崎県県土整備部営繕課設備室）
＊2　機械電子部
＊3　機械電子部（現　宮崎県総合政策部デジタル推進課）

ここで，簡易結露防止システムについて説明する．本装置は，調湿液を気液接触フィルタに滴下し，気液接触フィルタを通過する空気と調湿液を接触させることで調湿された空気を発生させ，結露が発生した空間内に調湿された空気を送り，室内を除湿させるという特徴を有している．

結露防止環境実験の構成を図 3 に示す．

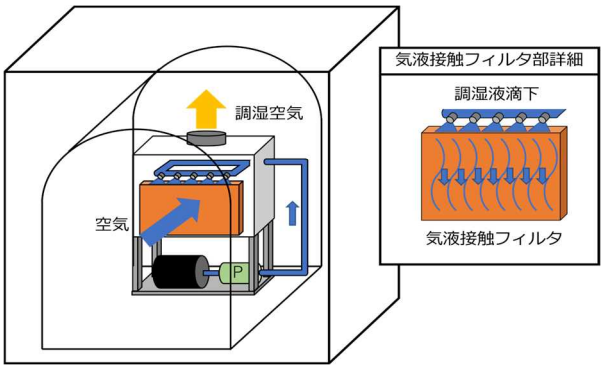


図 3　結露防止環境実験の構成

本実験で使用する気液接触フィルタは，サランロック（東洋クッション㈱, OM-150 および OS-120）とし，調湿液を滴下するノズルは，超低圧広角扇形ノズル（㈱いけうち，LYYP035）を使用した．本実験の実験条件を表 1 に示す．

表 1　結露防止環境実験の実験条件

実験環境体積	約 4 ㎥
相対湿度	100%RH
設定温度	5℃
調湿液濃度	45%
ファン風速	5 m/s
ポンプ流量	11.0，12.8，14.7，16.5 L/min

２－２　気液接触フィルタ性能実験

気液接触フィルタ OS-120 の性能評価を行うため，流体解析システム（ANSYS，Discovery AIM 2019 R3）を用いたシミュレーション解析および実証実験により，気液接触フィルタ前後における風速の違いを確認した．流体解析および実証実験におけるモデルを図 4，5 に示す．どちらもモデルの寸法は，350 mm×350 mm×600 mm とし，流入口，流出口の直径を 168mm とした．

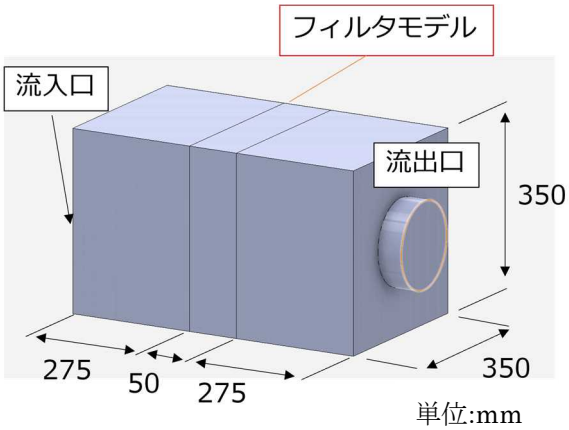


図 4　流体解析用モデル

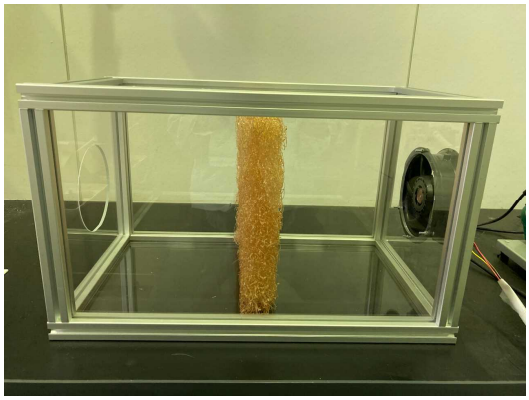


図 5　実証実験用モデル

シミュレーション条件および空気の物性値を表 2，3 に示す．なお，気液接触フィルタの粘性抵抗係数は，空気が対象のため≒0m^{-2} とし，慣性抵抗係数および空隙率は，OS-120 のカタログ値[2)]から算出した．また，実証実験における風速の測定箇所は，A~D’地点とし，高さ H，M，L の計 24 箇所を測定した（図 6）．なお，風速測定には，クリモマスター風速計（KANOMAX, MODEL6500 シリーズ）を使用した．

表 2　シミュレーション条件

流入口圧力		0 Pa
流出口風速		3.5 m/s
フィルタ	粘性抵抗係数	0 m^{-2}
	慣性抵抗係数	4.0 m^{-1}
	空隙率	96%

表 3　空気の物性値

密度	1.1843 kg/m³
熱伝導率	0.0264 W/m･K
比熱	1006.3 J/kg･K
粘性係数	1.8448E-5 Pa･s

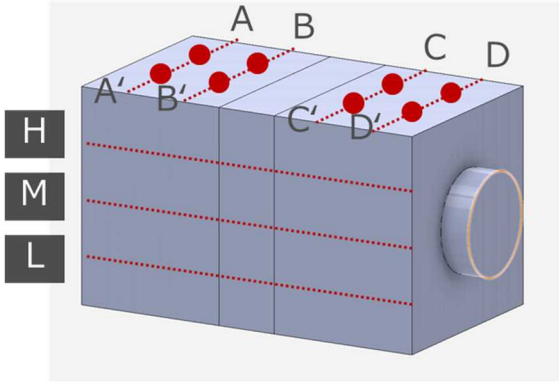


図 6　風速測定箇所

3　結果および考察

3－1　結露について

結露防止環境実験開始前および装置稼働後の実験環境内天井面における結露の状況を図 7 に示す．実験開始前は，結露水滴が付着しているが，装置稼働後は，結露水滴の消失が確認できる．これにより，調湿された空気を発生させ，実験環境内が除湿されたことが確認できた．

図 7　実験開始前（左）と装置稼働後（右）の結露状況

3－2　湿度について

気液接触フィルタ OM-150 および OS-120 使用時の湿度の変化を図 8，9 に示す．

図 8，9 より OM-150 使用時よりも，OS-120 使用時の方が装置稼働開始から除湿される時間までが短くなるという結果が得られた．これは，各フィルタのかさ密度が関係していると考える．OS-120 に対して，OM-150 の方がかさ密度が大きいため，空気の通り道が小さくなり，除湿に時間を要したと考えられる．ただし，図 9 の流量 16.5 L/min においては，調湿液がフィルタ上面で飛散してしまうため，十分にフィルタ内に滴下できず，除湿に時間を要していることから，OS-120 においては，流量 14.7 L/min 以下で滴下することが好ましいと考える．

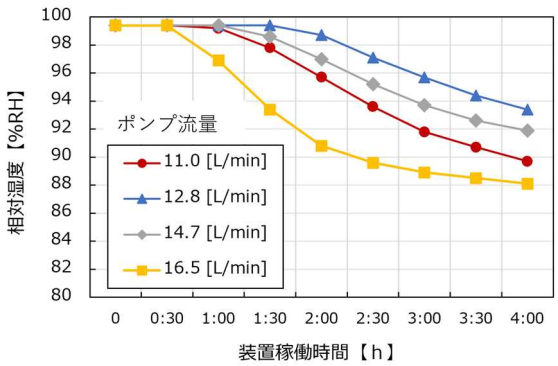


図 8　気液接触フィルタ（OM-150）使用時の湿度の変化

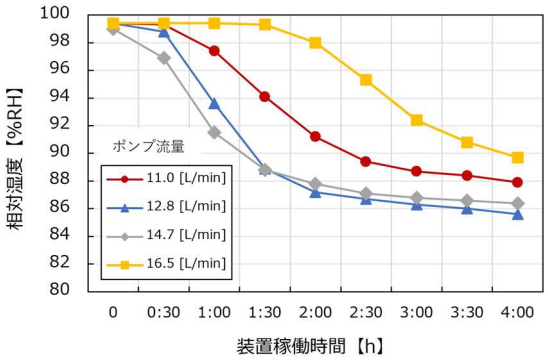


図 9　気液接触フィルタ（OS-120）使用時の湿度の変化

3－3　気液接触フィルタの流体解析

流体解析の結果を可視化したものを図 10，11 に，解析結果と実測値およびその誤差を表 4 に示す．

図 10，11 より，中央断面および A-D 断面ともに気液接触フィルタ前後における風速の変化は確認できた．しかし，解析結果と実測値の誤差が大きくなった．これは，解析条件や解析モデルの設定が実

際の環境と乖離していたためと考える．特に，解析条件の流出口の設定に関しては，ファンの P-Q 特性を考慮せず，流出口から一様に 3.5 m/s で流出すると設定していた．今後は，解析用にファンをモデル化した上で，P-Q 特性を活用したより詳細な解析を実施する．

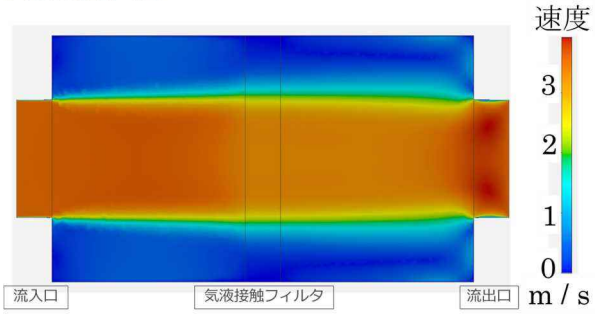


図 10　流体解析の結果（中央断面）

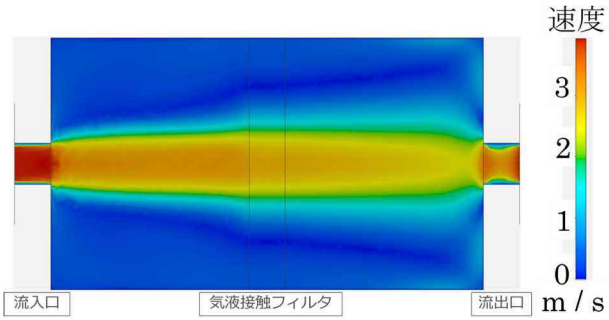


図 11　流体解析の結果（A-D 断面）

表 4　解析結果と実測値およびその誤差

測定箇所 / 高さ	A		A’		B		B’		C		C’		D		D’	
	解析	実測	解析	実測	解析	実測	解析	実測	解析	実測	解析	実測	解析	実測	解析	実測
H	0.19	0.64	0.18	0.2	0.07	0.65	0.08	0.42	0.44	0.58	0.45	0.37	0.67	0.63	0.67	0.62
	70.31%		10.00%		89.23%		80.95%		24.14%		21.62%		6.35%		8.06%	
M	2.81	2.2	2.78	1.95	2.77	2.24	2.74	2.2	2.57	1.06	2.56	1.12	2.4	0.85	2.4	0.88
	27.73%		42.56%		23.66%		24.55%		142.45%		128.57%		182.35%		172.73%	
L	0.19	0.41	0.19	0.35	0.08	0.23	0.07	0.23	0.45	0.41	0.44	0.53	0.67	0.58	0.67	0.45
	53.66%		45.71%		65.21%		69.57%		9.76%		16.98%		15.52%		48.89%	

（m/s）

4　まとめ

本研究では，調湿液を用いた気液接触法に関する技術蓄積を目的に簡易結露防止システムおよび流体解析を活用し実験を実施した結果，次の成果を得た．

1）調湿液のポンプ流量および気液接触フィルタの違いにより，除湿される時間に違いがあることが確認でき，今回の実験で使用した気液接触フィルタでは，かさ密度が小さいほうがより効率よく除湿されることが確認されたが，一定の流量を超えると調湿液の飛散が増加し，調湿効率が低下することが確認された．

2）流体解析において気液接触フィルタ前後における風速の変化は確認できたが，実測値との乖離が大きくあったため，P-Q 特性を活用した解析等を検討し，より詳細な解析を実施する必要がある．

以上，本研究により調湿液のポンプ流量と気液接触フィルタの関係性を確認することができた．
また，流体解析について，条件設定の方法や実証実験との比較方法についての技術蓄積を行うことができた．今後は，県内企業への技術移転や流体解析に関する詳細な検証を行う．

5　参考文献

1）小野貴哉，野口大介，陰山翼，平栄蔵：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，**63**，37-40(2018)

2）東洋クッション㈱，サランロック，https://toyo-cushion.com/produc

IoT システムのノイズトラブル原因の特定と対策

小田　誠*1・小玉　昂史*2

Cause Identification and Countermeasures of Noise Trouble in IoT System

Makoto ODA and Takafumi KODAMA

工場内に IoT システムを構築した後に発生する電磁ノイズトラブルの原因特定のために，ノイズ観測方法を検討した．ノイズ観測には，リアルタイム・スペアナとオシロスコープを使用した．検討の結果，リアルタイムなノイズ波形変化の観測や瞬間的にしか発生しないノイズの観測が可能になった．これにより，トラブル原因の特定と原因に応じた対策をとれるようになった．また，ノイズ対策の一手法として LC フィルタの設計および使用方法を検討した結果，入出力インピーダンスによってフィルタのノイズ低減効果が変化することが明らかになった．入出力インピーダンスが高い IoT 機器の場合，C 型やπ型の LC フィルタを挿入することによりノイズによる誤動作を低減することができた．

１　はじめに

国は, Society5.0 や Connected industries を掲げ，経済発展と社会的課題の解決を推進している．これを受け，ものづくり現場においても生産性向上のため, Internet of Things (IoT) 等の新技術の活用が検討されている．しかしながら，活用が進んでいるのは大企業 [1]であり，中小企業においては 1 割未満の導入にとどまっている [2].

導入が進んでいない理由のひとつとして，「導入後のトラブルに対応できない.」ことが挙げられる．工場等の生産現場では，生産ライン変更に柔軟に対応できるようにするため，IoT システムの無線機器によるワイヤレス化が増加しており, 2015 年からの 5 年間でワイヤレス利用は約 3 倍に拡大している [3]．無線機器の増加は，通信品質の低下によるトラブル発生の原因となる．また，工場における IoT システムの構築では，電子機器同士を結ぶ信号系がインバータ制御機器と共存する場面が多くなってきているが，工場内の産業機器等から発生する電磁ノイズによりトラブルが発生する．しかし，中小企業では，専門の技術者を配置できないためトラブルに対応できない．

＊1　機械電子部
＊2　元　機械電子部

そこで本研究では，県内中小企業等からの IoT システム導入後のノイズトラブル相談に対応できるようにするため，フィールドでトラブルが発生した場合の原因の特定と原因に対応した対策方法を検討したので報告する．

２　ノイズトラブル原因の特定

２－１　リアルタイム・スペアナによる観測

電磁ノイズには，外来ノイズと機器内部で発生するノイズがあるが，工場内で使用される IoT システムの場合は，外来ノイズがトラブルの原因となることが多い．外来ノイズには，①周辺で利用されている無線機器の無線通信電波と②工場内で使用されている加工機等が発する電磁ノイズがある．これら外来ノイズの観測には，スペクトラムアナライザを使用するが，一般的な周波数掃引方式のスペクトラムアナライザでは散発的に発生する外来ノイズの観測は困難である．そこで，フーリエ変換方式スペクトラムアナライザ（以下，リアルタイム・スペアナ）（Tektronix，RSA306B）を使用したノイズトラブル発生原因の特定方法の検討を行った．

具体的な方法としては，リアルタイム・スペアナにより広帯域に周波数を観測し，IoT 機器が使用す

る無線周波数に影響を与える外来ノイズの有無を確認した．次に周波数帯域をリアルタイム帯域幅まで狭めることにより，波形の動きをリアルタイムに観測できることを確認した．図 1 に IoT 機器（Raspberry Pi(3B)）が使用している無線（IEEE802.11b/g/n(2.4 GHz)）と周辺無線（Bluetooth5(2.4 GHz)）の電波干渉を，図 2 に IoT 機器が使用する無線と周辺機器（電子レンジ）が発するノイズの干渉を測定した結果を示す．

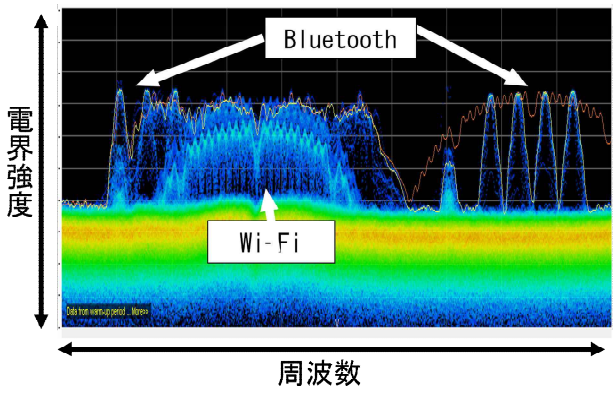


図 1　Wi-Fi と Bluetooth の電波干渉

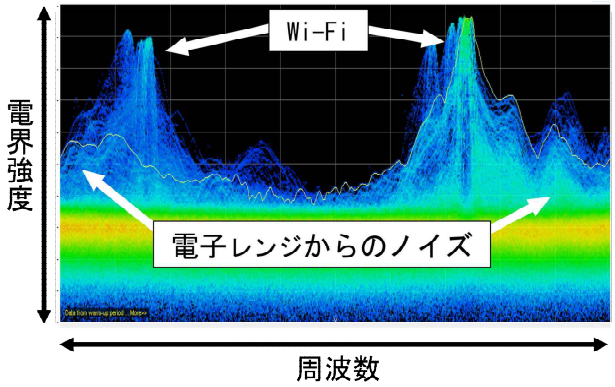


図 2　Wi-Fi と電子レンジノイズの電波干渉

また，リアルタイム・スペアナのスペクトログラム表示機能により外来ノイズの発生タイミングと発生間隔が観測できることを確認した．図 3 にスペクトログラム表示結果を示す．

2－2　オシロスコープによる観測

工場内では，リレーや誘導モータ駆動時にパルス状ノイズが発生する．パルス状ノイズは，ノイズの発生時間が瞬間であり周波数帯域が広帯域であるため，スペクトラムアナライザでの観測が困難である．

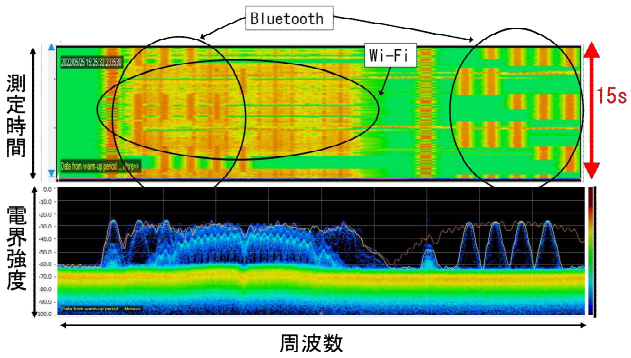


図 3　スペクトログラム表示

そこでオシロスコープ（YOKOGAWA, DLM2054）を用いた観測方法を検討した．実験の結果，オシロスコープのトリガ機能を使用することによりパルス状ノイズを捉えることができるようになった．また，オシロスコープの FFT 機能によりパルス状ノイズの周波数成分を観測できることが分かった．図 4 に加工機（卓上ボール盤）が発するパルス状ノイズを測定した結果を示す．

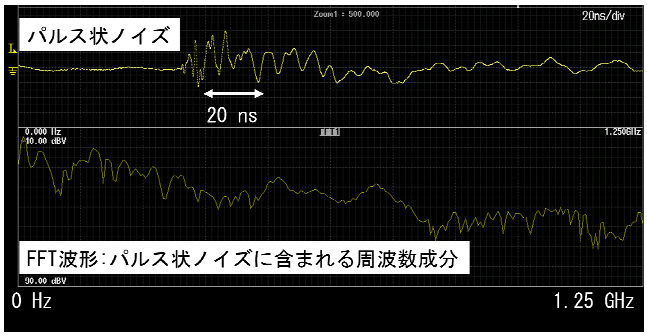


図 4　卓上ボール盤が発するパルス状ノイズ

測定の結果，パルス状ノイズは，広帯域なノイズ成分（DC～1,000 MHz）を有することが確認できた．これにより，IoT 機器が使用する無線と電波干渉を起こす可能性があることが確認できた [4]．

3　LC フィルタによるノイズトラブル対策

外来ノイズが IoT 機器で使用するセンサ等に干渉する場合，ノイズ発生側や受動側への対策が必要になる．本研究では様々な対策法を検討したが，工場内における IoT システムの構築では，電子機器同士を結ぶ信号系がインバータ制御機器と共存する場面が多くなってきていることから，信号線への LC フィ

ルタ挿入によるセンサ誤動作低減方法について報告する．

３－１　LC フィルタの設計

IoT 機器には，I2C や SPI 等のワンチップセンサが利用される．ワンチップセンサは，信号，電源，グランドのラインで構成されるが，信号ラインにノイズが印可されると誤動作が発生し，通信が停止する．そこで，I2C センサの誤動作を低減させるために信号ライン用の LC フィルタを設計した．I2C センサの信号周波数は最大でも約 2 MHz であるため，カットオフ周波数 10 MHz（信号周波数×5）の 6 タイプ（①C 型，②L 型，③CL 型，④LC 型，⑤T 型，⑥π型）の LC フィルタを設計した（図 5）．

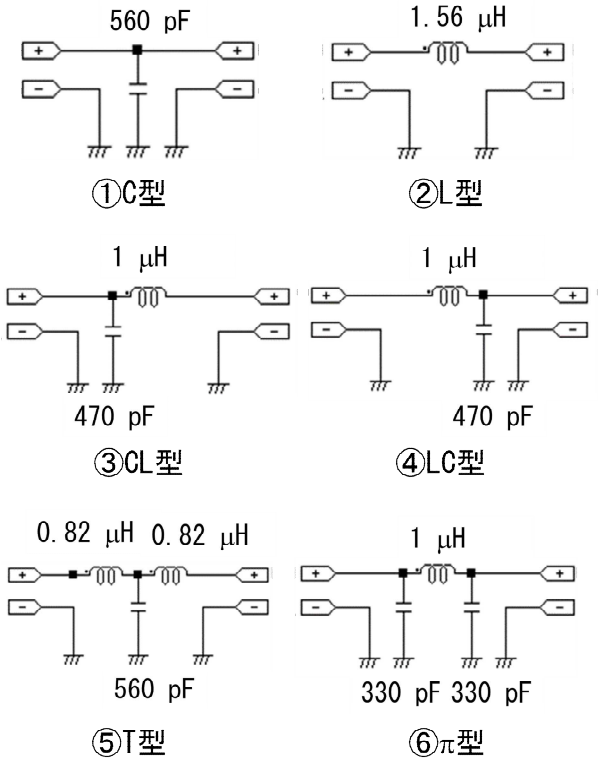


図 5　LC フィルタ

３－２　シミュレーション解析・特性評価

設計した LC フィルタをシミュレーション解析（MEL，S-NAP）した（図 6）．また，LC フィルタを試作し，ネットワークアナライザ（LibreVNA）による評価を行った（図 7）．シミュレーション解析結果およびネットワークアナライザによる特性評価結果のカットオフ周波数は 10 MHz である．また，1 次のフィルタの減衰特性の傾きは-20 dB/decade，2 次のフィルタの減衰特性の傾きは-40 dB/decade，3 次のフィルタの減衰特性の傾きは-60 dB/decade であり，シミュレーション結果と実測値がほぼ一致した．しかし，コンデンサの等価直列インダクタンス（ESL）やインダクタの浮遊容量（Cp）によって高周波域でのノイズ遮断効果が低下した．

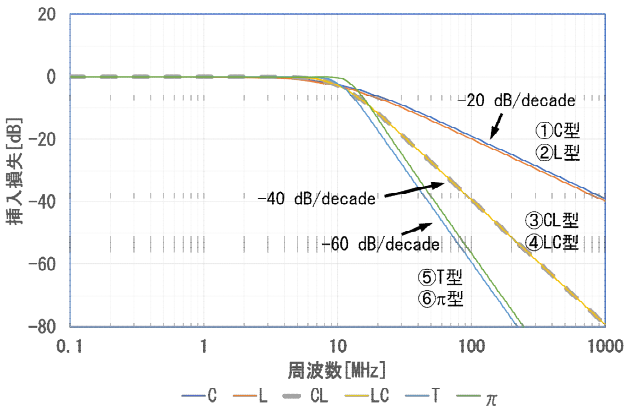


図 6　シミュレーション解析結果

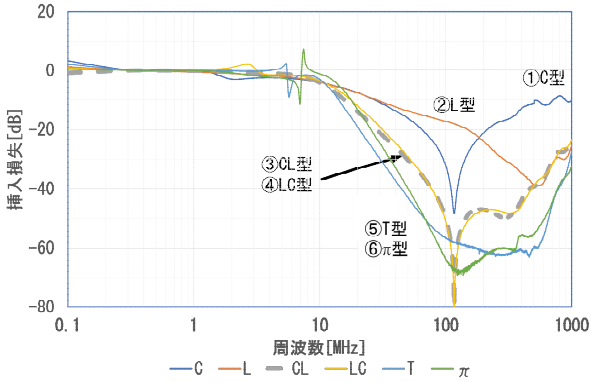


図 7　ネットワークアナライザによる特性評価

３－３　ノイズ耐性評価

LC フィルタ挿入によるセンサ誤動作低減効果を検証するためにノイズ耐性評価を行った．Raspberry Pi(3B)と I2C 温度センサモジュール（Analog Devices，ADT7410）をケーブルで接続する．次に通信状態（0.5 秒間隔でセンサからの温度を読み取り，LCD モジュールに表示）にして，ケーブルにバーストノイズを重畳する．重畳するバーストノイズの特性を表 1 に示す．

試験は，IEC 規格（IEC61000-4-4，EFT/B 試験）に準拠して行い，容量性結合クランプを使用して，ケーブルにノイズを結合させた．図 8 に試験のセットアップを示す．

表 1　バーストノイズの特性

極性	正
繰返し周波数	5 kHz
バースト時間	15 ms
バースト周期	300 ms

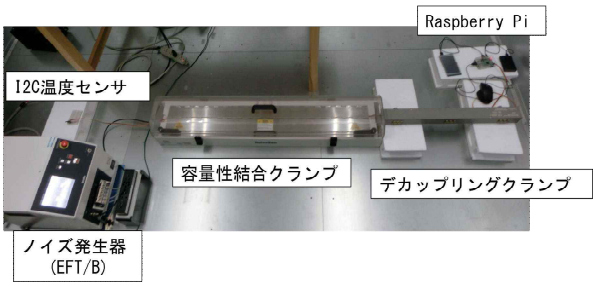


図 8　EFT/B イミュニティ試験のセットアップ

フィルタの種類や印加電圧を変えて試験を行った．ノイズ印加時間 1 分の試験を各条件で 10 回行い，誤動作しなかった回数をカウントした．試験結果を表 2 に示す．

表 2　試験結果

印可電圧	フィルタ無	電源ライン*	① C 型	② L 型	③ CL 型	④ LC 型	⑤ T 型	⑥ π型
挿入損失	-	-	20dB	20dB	40dB	40dB	60dB	60dB
250 V	2/10	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
300 V	0/10	1/10	10/10	8/10	10/10	10/10	10/10	10/10
400 V	-	0/10	10/10	0/10	9/10	3/10	10/10	10/10
500 V	-	-	10/10		8/10	0/10	0/10	10/10
600 V	-	-	0/10		1/10	-	-	1/10
700 V	-	-	-		1/10	-	-	1/10
800 V	-	-	-		0/10	-	-	0/10
試験結果	Fail	Fail	Level 2	Level 1	Level 1	Level 1	Level 1	Level 2

*VDD-GND 間に 10 μF と 0.1 μF を並列に挿入

電源ラインおよび信号ラインに LC フィルタを挿入することにより正常動作する割合が高くなった．信号ラインへのフィルタ挿入による誤動作改善効果は，C 型とπ型が高かった．

4　考察

4－1　ノイズトラブル原因の特定

リアルタイム・スペアナ，オシロスコープを用いたノイズ観測によりノイズトラブル原因の推定ができれば，原因となる機器が使用している無線周波数や発する電磁ノイズと異なる周波数やチャンネルを使用することによりノイズトラブルを低減できると考えられる．

4－2　LC フィルタによるノイズトラブル対策

LC フィルタを挿入することにより IoT 機器のノイズに対する耐性が改善されたが，改善効果は，一概に挿入損失が大きいフィルタが高い訳ではなかった．フィルタの効果が得られない理由として，フィルタの入出力インピーダンスの影響が考えられる．図 6 のシミュレーション解析結果は，入力インピーダンス 50 Ω，出力インピーダンス 50 Ω とした結果であるが，実際の伝送回路の入出力インピーダンスは 50 Ω ではない．そこで入出力インピーダンスを変化させた場合のフィルタの挿入損失をシミュレートした．入出力インピーダンスを CISPR17（受動形 EMC フィルタの抑圧特性の測定法）に基づいて，0.1 Ω と 100 Ω の組合せとした [5]．図 9～12 に結果を示す．

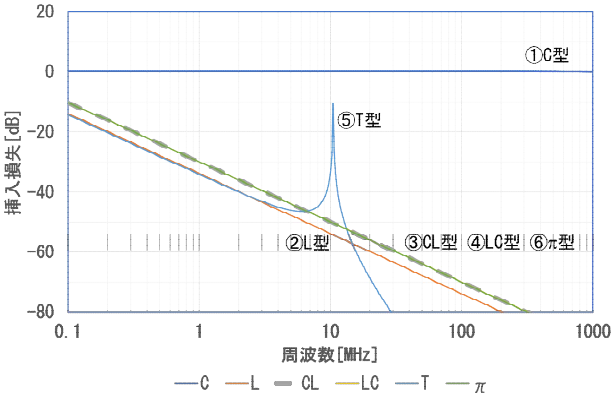


図 9　入力インピーダンス 0.1 Ω
出力インピーダンス 0.1 Ω

入力インピーダンス 0.1 Ω，出力インピーダンス 0.1 Ω の場合は，T 型フィルタの挿入損失が最大になった．また，L 型フィルタの挿入損失が，他の 4 種のフィルタに比べて大きくなった．

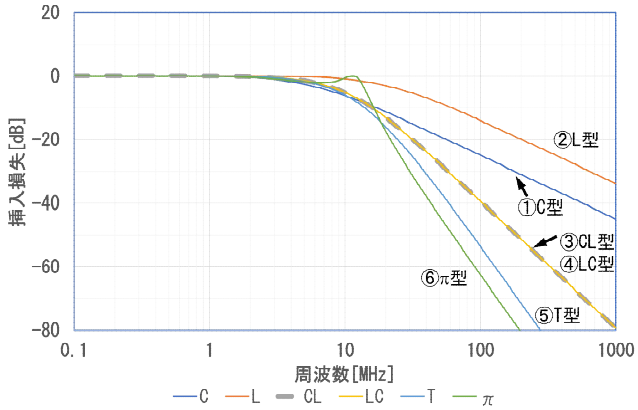


図 10　入力インピーダンス 100 Ω
出力インピーダンス 100 Ω

入力インピーダンス 100 Ω, 出力インピーダンス 100 Ωの場合は，C 型，π型フィルタの挿入損失が入出力インピーダンス 50 Ωの場合に比べ大きくなった.

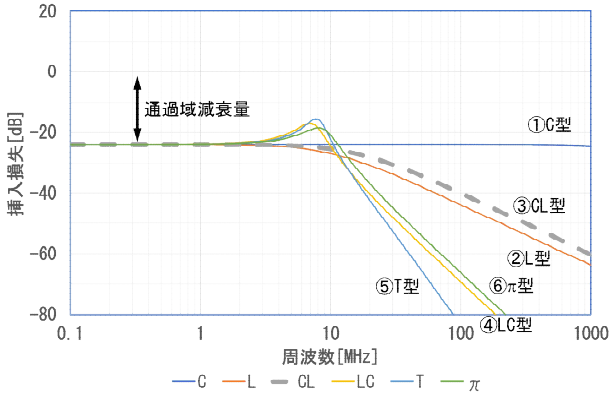


図 11　入力インピーダンス 0.1 Ω
出力インピーダンス 100 Ω

入力インピーダンス 0.1 Ω，出力インピーダンス 100 Ωの場合は，通過域減衰量が大きくなったが，LC 型フィルタの減衰域参照減衰量が入出力インピーダンス 50 Ωの場合に比べ大きくなった.

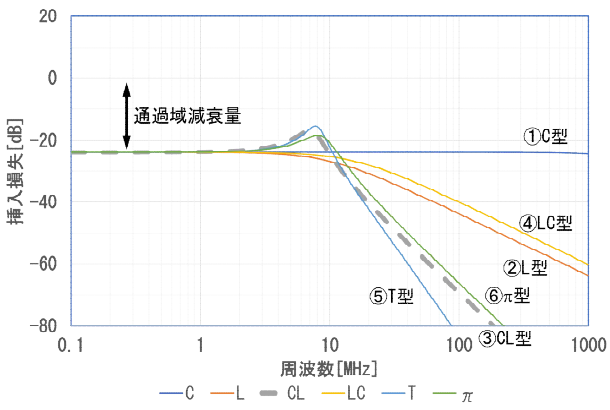


図 12　入力インピーダンス 100 Ω
出力インピーダンス 0.1 Ω

入力インピーダンス 100 Ω, 出力インピーダンス 0.1 Ωの場合は，通過域減衰量が大きくなったが，CL 型フィルタの減衰域参照減衰量が入出力インピーダンス 50 Ωの場合に比べ大きくなった.

以上をまとめると，LC フィルタを使用する上での入出力インピーダンスに応じた最適な選定条件は表 3 のようになる.

表 3　LC フィルタの種類と最適条件

		出力インピーダンス	
		高	低
入力インピーダンス	高	C 型 π型	CL 型
	低	LC 型	L 型 T 型

実験結果で，C 型とπ型フィルタの誤動作低減効果が高かった要因は, I2C と Raspberry Pi のインピーダンスが 1kΩ程度の高インピーダンスであるためと考えられる.

5　まとめ

県内中小企業からの IoT システム導入後のノイズトラブル相談に対応できるようにすることを目的に，フィールドでトラブルが発生した場合の原因の特定方法と原因に応じた対策方法を検討した. その結果，以下のことが明らかになった.

1) リアルタイム・スペアナを用いることにより波形の動きをリアルタイムに観測できる．また，スペクトログラム表示により外来ノイズの発生タイミングと発生間隔を調べることにより，原因の特定が容易になる．
2) オシロスコープのトリガ機能を使用することによりパルス状ノイズの観測が可能である．また，加工機等が発するパルス状ノイズは，広帯域なノイズ成分を有しており，IoT 機器が使用している無線と電波干渉を起こす可能性がある．
3) 外来ノイズが IoT 機器で使用しているセンサ等に干渉する場合，LC フィルタの利用が有用であるが，利用する場合は，入出力インピーダンスを考慮したフィルタを選定する必要がある．

5　参考文献

1) 田原健吾：日本企業の AI・IoT の導入状況，日本経済研究センター，5(2019)
2) 中小企業庁：第四次産業革命と中小企業について，中小企業庁，16(2017)
3) 総務省：電波利用に関する現状と課題について，総務省，13(2020)
4) 中居倫夫，小野仁，今井和彦，荒木武，小泉協，高野寛己，林正博，高田健一，沼山崇，坂下雅幸，佐藤裕高：宮城県産業技術総合センター研究報告，18,23-43(2021)
5) Engeer，“ノイズフィルタが効かない理由（シミュレーション検証）”，EMC 村の民，2021，https://engineer-climb.com/filter-impedance-2/，(参照　2022-04-03).

AI を利用した画像認識技術等に関する研究

小玉　昂史*1・肥後　一彦*2

Study on AI Image Recognition and Related Technologies

Takafumi KODAMA and Kazuhiko HIGO

本研究では，画像処理および AI などの技術を県内の各種産業に利活用することを目的に，これらの技術蓄積を行い，さらに，Python パッケージやアプリケーションソフトウェア（以下，アプリ）を開発し，実際の製造現場での活用を想定した部品（以下，ワーク）の分類ができるシステムを構築した．構築したシステムは，カメラ内のワークに接触等がなく，認識結果出力が遅くても支障がない場合には工場等において有用であると考えられ，得られた技術は，当センターへの技術相談や企業との共同研究等で活用することが可能であることを確認した．今後は，実際の工場等で運用するために必要な技術の研究を実証実験等により行い，これらの技術を企業が活用できるツール開発等を進めることで県内産業の更なる技術力向上に貢献する．

１　はじめに

近年の人手不足や働き方改革により，工場の製造ライン等での自動化や省力化（以下，自動化等）のニーズが増えており，当センターにおいても自動化等の課題に関する相談が増えている．これらの課題を解決するためには，IoT(Internet of Things)技術，画像処理技術，AI（Artificial Intelligence）の分野における機械学習に関する技術等を用いるが，これまで当センターでは画像処理や機械学習に関してのノウハウや専門的な知識を有しておらず，十分な技術支援を行えていなかった．

これに対して，自動化等に関する県内企業との共同研究を実施し，具体的な課題を画像処理技術によって解決した[1]が，工場の作業員がこのような技術を使いこなすことは容易ではないこともわかった．

そこで本研究では，画像処理および AI 等の技術を県内の各種産業に利活用するために，必要な技術に関するプログラミングライブラリ（以下，ライブラリ）やアプリを比較的容易に操作できることを目標に，これらの技術蓄積を行い，本技術を応用したシステムの研究開発を行うことで，県内製造業等の生産性向上に貢献することを目的とした．

＊1　元　機械電子部
＊2　機械電子部

２　研究方法

本研究で蓄積する技術は，県内企業での利活用を目的としているため，現場への技術移転を想定した研究開発が必要となる．そこで，工場内の製造ラインにおいて製造されたワークを対象とすることを想定し，ボルト，ナット，ワッシャーの３種類のワークについて，画像処理および AI を用いて，ワークをカメラで撮影するとそれらの種類を自動で分類するシステム（以下，ワーク分類システム）の開発を行った．本研究では，得られた技術を企業へ移転するうえで必要となる要素の掘り下げを以下の手順で行った．

１．画像の特徴量抽出を行うために必要な画像処理技術を蓄積し，企業がそれらの技術を簡単に利用できるようなライブラリおよびアプリを開発する．
２．ワーク分類システムに与えるデータを取得する方法やモデルに入力する前に行う処理（以下，前処理）等について１のライブラリを用いて実装を行い，ライブラリの有用性を確認する．
３．２で得られたデータを用いて実際にワーク分類システムを構築し，システムの利用範囲等について検討を行う．

３　研究結果

３－１　画像処理技術の蓄積とライブラリおよびアプリの開発

３－１－１　研究用 Python パッケージ mitc

本研究で行った画像処理等については，プログラミング言語 Python 3 によって開発し，得られた要素技術は，パッケージ（Python でのライブラリの名称）化することで，容易に再利用が可能となるようにした．開発したパッケージは研究用 Python パッケージ mitc と名付け， mitc をルートとして図 1 のような構成で作られている．パッケージ内の各クラスやメソッドには docstring（メソッド等の仕様を記載できる Python 独自のドキュメント用文字列）による説明を加え，docstring からマニュアルを自動生成できるツール sphinx によって図 2 のような HTML リファレンスページを作成した．これによりクラスやメソッドの解説を参照することができ，技術移転や改良等が行いやすくなった．

また，パッケージ内の各クラス等はオブジェクト指向および構造化プログラミングを基本として作成した．これにより，各メソッド内で行われている処理の詳細を意識せずに再利用することができるため，技術移転先の担当者は，比較的容易に，短時間でプログラミング開発が行えるようになった．

```
mitc
├── math: 数学関連パッケージ
├── img: 画像処理関連パッケージ
├── cam: カメラ操作関連パッケージ
├── dobot: 簡易ロボット(DOBOT)操作用パッケージ
├── nn: ニューラルネットワーク関連パッケージ
├── kivy: GUI製作用パッケージ(kivyパッケージ拡張用)
└── examples: パッケージを使用したプログラム例
```

図 1　研究で蓄積した技術の Python パッケージ mitc

３－１－２　画像処理・制御用アプリ

mitc パッケージによるプログラミングよりも，蓄積した技術を直感的に利用するため，画像処理やロボットアームの制御などを行える「画像処理・制御用アプリ」を開発した．その基本画面を図 3 に示す．

本アプリを利用したシステムを技術移転する際には，当センターにて，現場の利用者に対し画像処理の基礎やアプリでの設定方法，アプリから出力された設定情報を用いたプログラミング等についての研修を行った．これにより，短期間の研修にも関わらず，現場の利用者が本研究で行った画像処理等に関する技術を扱えるようになり，製造ワークを自動で移動・設置するシステムを自ら開発することが可能となった．

図 2　画像処理・制御用アプリの基本画面

３－２　ワーク分類システムでのデータの前処理

ワーク分類システムを構築するため，まずは各ワークをAIに入力するためのデータを取得する手法について検討を行った．

画像はカメラスタンド（㈱エス・エフ・シー，SL700）にWebカメラ（ナカバヤシ㈱，MCM-19，解像度1920×1080）を固定して取得した．また，機械学習による分類手法の強みとして，曖昧性のある画像であっても分類が可能である点が挙げられるため，カメラのキャリブレーションおよび歪み補正[2)]や遮光などは特に行わずに撮影を実施した．

３－２－１　ワーク画像の切り出し

ワークを分類するためには，カメラで取得した画像から各ワークを同じアスペクト比で切り出す必要がある．この切り出しに使用する画像処理の手法は3-1-2で述べた画像処理・制御用アプリを使用することで検討し，実際の開発は3-1-1で述べたmitcパッケージを用いて行った．切り出しのアルゴリズムは以下のとおりである．

(1) 射影変換[2)]により台形補正を行う．
(2) ガンマ補正[2)]（$\gamma = 0.6$）により手順(1)の画像の明るさを調整する．
(3) ガウシアンフィルタ[2)]（フィルタサイズ(5, 5), $\sigma = 1.25$）により手順(2)の画像の平滑化を行う．
(4) しきい値40で手順(3)の画像の二値化[2)]を行う．
(5) カーネルサイズ(5, 5)で手順(4)の画像のオープニング処理[2)]を行い，小さな白領域を削除する．
(6) カーネルサイズ(7, 7)で手順(5)の画像の膨張処理[2)]を行い，ワークの領域が輪郭内に全て入るようにする．
(7) 手順(6)の画像に対し輪郭抽出処理[2)]を行う．
(8) 手順(7)で抽出された輪郭内の面積Aを計算し，$1000 \leq A \leq 20000$の範囲外の輪郭を削除する．
(9) 手順(8)で抽出された輪郭を含む直立バウンディングボックス[2)]を計算する．
(10) 手順(8)で抽出された輪郭を含む最小のバウンディングボックス[2)]（以下，最小バウンディングボックス）を計算する．
(11) 手順(1)の画像と同じ大きさの黒画像をワークの個数分作成する．
(12) 手順(11)の各画像に手順(10)の最小バウンディングボックスと同じ座標を，ワークごとに分けて白く塗りつぶす．
(13) 手順(1)の画像と手順(12)の各画像の乗算合成画像を作成する．
(14) 手順(9)の直立バウンディングボックスのサイズが正方形になるように，短辺を左右または上下に均等に拡大し，この正方形のバウンディングボックスで手順(13)の各画像を切り抜く．

図３　画像処理・制御用アプリの基本画面

上述のアルゴリズムを使用して，図4のようにワークを24個並べて画像の取得を行った．なお，図4ではアルゴリズムの手順(10)で計算された最小バウンディングボックスの表示も行っている．また，各ワークは回転や位置の移動を行いながら16回ずつ撮影することで，ボルト，ナット，ワッシャーの各ワーク計384枚（合計1,152枚）の画像を取得した．取得した画像の例を図5に示す．

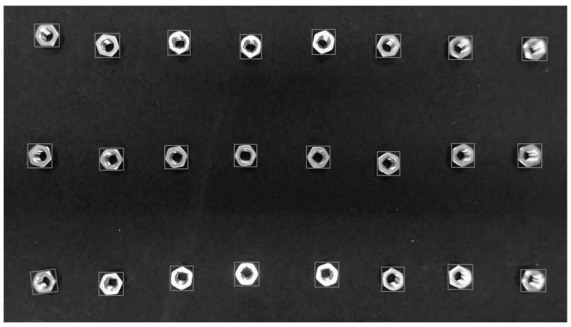


図４　画像取得の様子（アルゴリズム10まで実施）

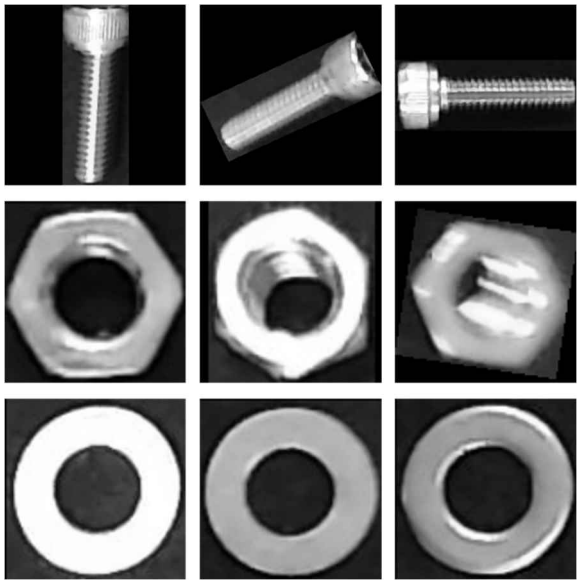


図 5　取得した各ワーク画像の例

３－２－２　ワーク画像の水増し

取得した画像にはガンマ補正[2)]，コントラスト調整[3)]，明度調整[3)]を行い，各パラメータを段階的に変化させることで水増しを行った．各パラメータの範囲は表 1 のとおりである．これによって同様に，3 ワーク分の各画像を 67,200 枚（合計 201,600 枚）に水増しした．

３－３　ワーク分類システムの構築

３－３－１　ニューラルネットワークモデル

ワーク分類システムの根幹となるニューラルネットワークモデルについては，ディープラーニング用パッケージである Keras[4)]を用いて作成した．この際，入力画像は横 28×縦 28 ピクセルに縮小して入力した．作成したモデルは図 6 のとおりである．

表 1　画像水増しのパラメータ

パラメータ名	開始値	終了値	ステップ
ガンマ	0.8	1.2	0.1
コントラスト	0.8	1.2	0.1
明度	-12	12	4

モデルは，2 次元情報を学習するための畳み込み層（Conv2D）を 2 つ繋げ，画像の移動に強くするための最大値プーリング層（MaxPooling 2D），過学習を防ぐためのドロップアウト層（Dropout）と続き，畳み込み層，最大値プーリング層，ドロップアウト層を再度繋いだ後，平坦化層（Flatten）により 1 次元配列に変換し，全結合層（Dense）で出力の 3 種類のワークに対応した層に繋いでいる．また，各層の活性化関数にはランプ関数[4)]（ReLU）を，全結合層の活性化関数にはソフトマックス関数[4)]（softmax）を使用した．

学習時の損失関数には交差エントロピー誤差関数[4)]を，最適化アルゴリズムは SGD[4)]を，さらに，学習評価には正解率（予測結果における正解数をデータ数で割った値）を使用し，学習率は 0.01 に設定した．なお，学習の最大エポック数（訓練データをすべて使い切り学習した回数）は 100 に設定したが，損失関数の値がこれ以上低下

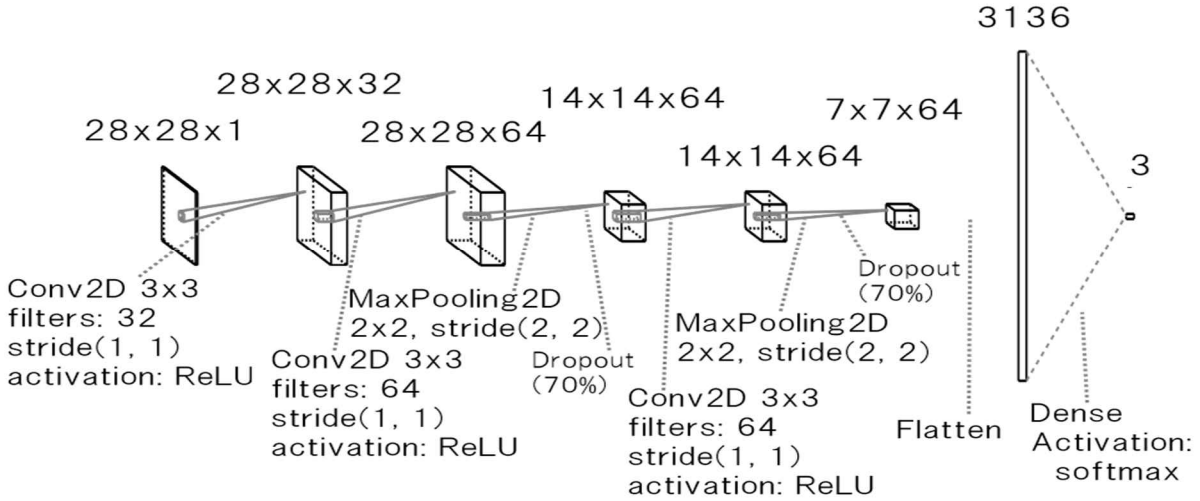


図 6　作成したモデル

しないと判断できる場合には，EarlyStopping クラス[4]により早期に学習を終了するように設定した．

図 7 は訓練データと検証データにおいて，横軸にエポック数，縦軸に正解率をプロットしたものである．グラフから，多少過学習が起きているものの，検証時のデータにおいても正解率の値が非常に高いことから，特段問題となるような過学習は起きていないことがわかる．また，検証データでの最終的な正解率は 0.9969 となった．

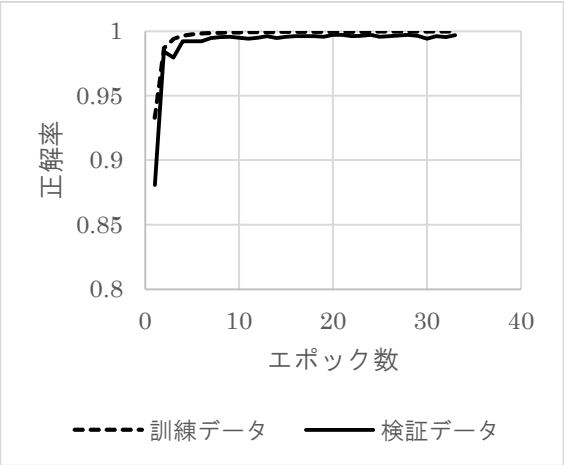


図 7　学習過程のグラフ

３－３－２　ワーク分類システム

3-3-1 で製作したモデルを利用して，Web カメラで撮影をすることで図 8 のような分類結果を表示する「ワーク分類システム」を開発した．

このシステムを用いてワーク分類を行った結果，ワークの最小バウンディングボックスが正しく描画されている場合には，ワークをどの位置，どの方向に置いても正しく分類することが可能となった．ただし，図 9 のようにワークが接触しているような例では，最小バウンディングボックスの抽出がうまくいかず，ニューラルネットワークモデルへ正しい入力を与えることができないため，ワークを別のもの（ここではボルト）であると誤認してしまうことがあった．また，ワークを 1 つ設置した場合の処理速度は 4 fps（フレーム毎秒）ほどになったが，図 8 のように多くのワークを設置した場合には 0.5 fps ほどとなり，認識するワークの数が増えるほど認識速度は低下することがわかった．

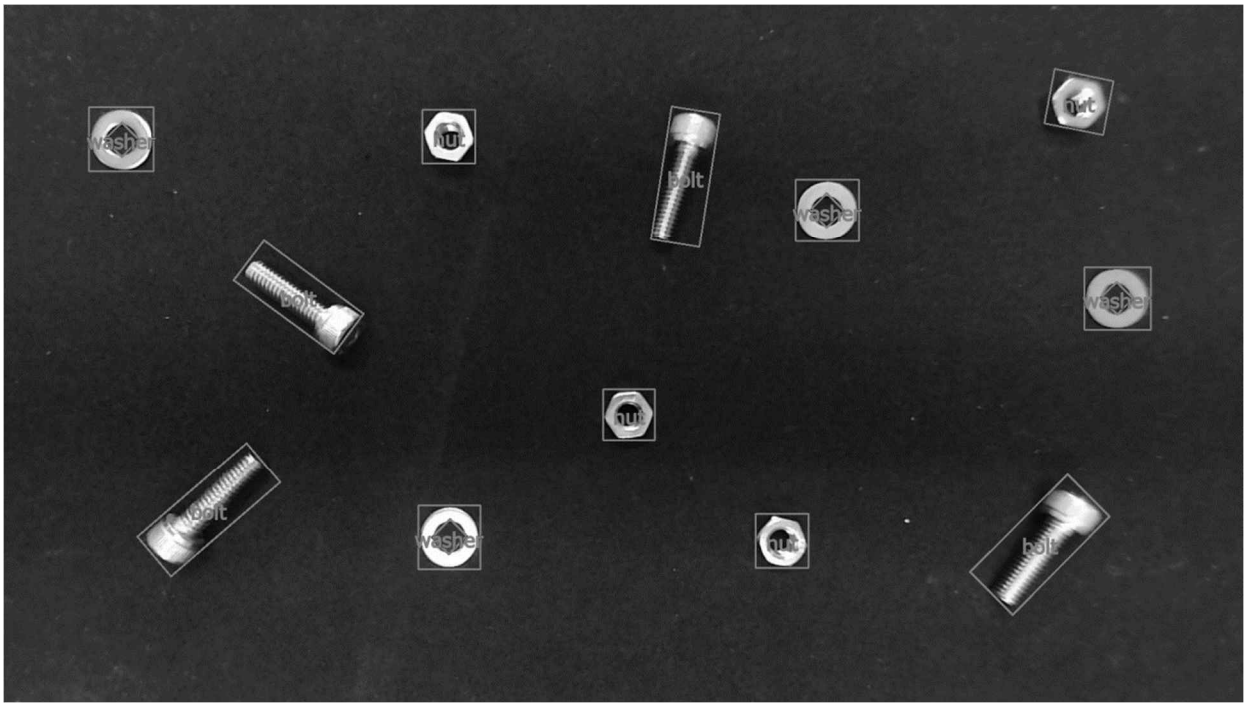


図 8　ワーク分類システムの表示画面

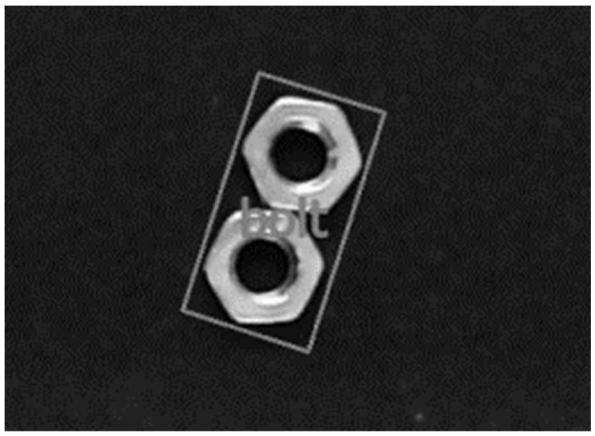


図 9　ワーク分類システムの認識失敗例

4　考察

本研究を進める中で蓄積した画像処理技術について，Python のパッケージ mitc を自作し，制御用アプリや，関連するプログラムを実装することで，技術相談への対応や技術移転を行いやすい環境づくりを行った．これらの技術については，県内企業等との共同研究や，当センターへの技術相談で活用しており，課題解決へ貢献できていることから有用であると考えられる．

また，AI による画像認識技術についても，条件が整えば現場での実装が可能であると考えられる．例えば，簡易型ロボットアームを用いた製造ワークのハンドリングに関する研究[1)]で，ワークを撮影するカメラの撮影範囲内に，複数の製造ワークが同時に存在する場合，誤った把持を行う可能性があるという課題があった．しかし，実験を実施した現場でのワークは 1 つずつ製造されて既定の場所に排出されるため，排出されるたびにそれが何のワークであるかをワーク分類システムによって認識し，どのように把持を行うかの設定を認識結果により切り替えることで，この課題は改善可能であると考えられる．加えて，実験に使用したワークの製造は，1 つあたり数分単位で行われるため，本研究で開発したワーク分類システムの速度で処理を行っても，工場の自動化等の実現は可能である．このように，カメラ内に写るワークの接触や重なりがなく，認識結果の出力が遅くても問題ない場合にはワーク分類システムは有用であると考えられる．ただし，今回は規格化された工業製品に絞って分類を行ったため，規格化されていないような製品（例えば野菜など）については元の撮影データがさらに大量に必要になると考えられる．

また，ワークが接触するような状況の場合には，YOLO[5)]や DETR[6)]のようなバウンディングボックスを自動で取得できるモデルを使用する必要があるが，簡単な事例の場合には今回のような自作ツールで対応し，技術移転を行うことで，県内企業の技術者が画像処理や AI についての理解を深めることができ，これらの技術を用いた現場の改善活動に取り組みやすくなると考えられる．このため，得られた技術については，技術の紹介や解説，研修等を行うことで，県内企業への周知を図っている．

5　まとめ

本研究では，画像処理および AI などの技術を県内の各種産業に利活用するために，これらの技術蓄積を行い，本技術を応用したシステムの研究開発を行うことで，県内製造業等の生産性向上に貢献することを目的として研究を行った．

研究で蓄積した技術については Python パッケージ mitc やそのマニュアルを作成し，画像処理・制御用アプリを開発することで，再利用や技術移転を行いやすい環境づくりを行った．

また，実際にボルト，ナット，ワッシャーの三種類のワークの分類が行えるように，撮影の手法や取得データの水増し方法を検討し，ニューラルネットワークモデルを構築した．このモデルを組み込んだワーク分類システムは，カメラ内に写るワークの接触や重なりがなく，認識結果の出力が遅くても問題ない場合（0.25～2 秒程度以上）には現場においても有用であると考えられる．

得られた技術については，当センターへの技術相談対応や企業等との共同研究を通じて，技術移転を行い，県内産業の技術力向上に貢献した．

今後は，実際の工場等で運用するために必要な技術について，現場での実証実験等による研究を行い，これらの技術を県内産業で活用できるツール開発等を進めていく．また，接触や重なりがあるワークの分類，製品の不良診断など，さらに複雑な分類事例にも取り組むことで，更なる技術の蓄積を行う．

６　参考文献

1) 小玉昂史, 肥後一彦, 佐伯公也, 橋本泰弘, 久永亮太, 中平伸一: 簡易型ロボットアームを用いた製造ワークのハンドリングに関する研究, 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, 66, 35-41 (2021)

2) Adrian Kaehler, Gary Bradski 著, 松田晃一, 小沼千絵, 永田雅人, 花形理　訳:詳解 OpenCV 3 －コンピュータビジョンライブラリを使った画像処理・認識, オーム社, 239-285, 391-425, 613-673 (2018)

3) 末松良一, 山田宏尚　共著:画像処理工学, コロナ社, 92-119 (2000)

4) チームカルボ著, 物体・画像認識と時系列データ処理入門[第 2 版], 秀和システム (2021)

5) Joseph R., Santosh D., Ross G., & Ali F., “You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection”, arXiv: 1506.02640. (2015)

6) Carion N., Massa F., Synnaeve G., Usunier N., Kirillov A., & Zagoruyko S. “End-to-End Object Detection with Transformers”, arXiv: 2005.12872. (2020)

ぎょうざ特徴の見える化：主成分分析による特徴マッピングを活用した消費者向けポスターの開発

金井　祐基*1・西原　玲子*2・渡辺　愛香*3・矢野　翔太*3・永山　志穂*1
朝倉　麻衣*1・高橋　克嘉*1・佐藤　未遊*2・平川　良子*4

Visualization of *Gyoza* Characteristics：Development of Consumer Poster using Characteristics Mapping based on Principal Component Analysis

Yuki KANAI, Reiko NISHIHARA, Aika WATANABE, Shota YANO, Shiho NAGAYAMA, Mai ASAKURA, Katsuyoshi TAKAHASHI, Miyu SATO and Yoshiko HIRAKAWA

「宮崎ぎょうざ」には様々な種類の餃子があるが，消費者がどのような餃子があるかを確認したい場合，各社ホームページ等を閲覧する必要があり，各餃子の特徴を一元的に把握することが難しい状況であった．そこで宮崎市ぎょうざ協議会の会員 20 店舗の餃子を対象に，アンケートおよび機器分析により野菜割合，粗脂肪含量，多汁性，皮の厚さ等を調べ，これらのデータを主成分分析で解析し，得られた特徴マッピングを消費者向けにデザインすることで，餃子の特徴を見える化したポスターを作成した．ポスターにより多様な餃子があることが一元的・視覚的に表現され，消費者に対して「餃子を食べ比べる」，「好みの餃子を選ぶ」といった新たな選択肢を提供することができた．

１　はじめに

総務省統計局が実施した家計調査において，宮崎市の 1 世帯（2 人以上）当たりの餃子の支出金額および購入頻度が 2021 年，2022 年ともに全国一位となり，当県の餃子が注目されている．県内で製造・販売されている餃子，いわゆる「宮崎ぎょうざ」には様々な種類の餃子がある．しかし，消費者がどのような餃子があるかを確認したい場合，各社ホームページ等を閲覧する必要があり，掲載情報も統一されていないことから，各餃子の特徴を一元的に把握することが難しい状況であった．各餃子の違いが一目で分かるツールがあれば，消費者が好みの餃子を選ぶ際に有益であり，食べ比べのきっかけになることも期待できる．

このため，宮崎市ぎょうざ協議会の会員 20 店舗の餃子を対象に，各餃子の特徴を整理し，特徴を見える化することに取り組んだ. 餃子の違いについて，宮崎市ぎょうざ協議会が消費者からよく質問される項目として「餡の肉と野菜の割合」，「ニンニクの量」，「皮の厚み」および「あっさり系か，こってり系か」があったため，これらの特徴を中心に各餃子の特徴を調べることとした．

得られた特徴に関する複数の情報を集約して可視化する方法として，主成分分析（Principal Component Analysis : PCA）がある．主成分分析は多変量解析法の一つであり，多くの量的変数がある場合に，低い次元の合成変数に変換することによって，データが有する情報をより解釈しやすくすることができる[1]．吉田ら[2]は，肉シュウマイ 15 種類を対象に官能評価を実施し，得られた 19 用語の評価データを主成分分析で解析することで，各肉シュウマイの特徴を読み取ることができる官能特性マッピングを作成している．

そこで本研究では，20 種類の餃子について，(1)アンケートおよび機器分析により各餃子の特徴を調べること，(2)調べた特徴を主成分分析により解析し，特徴マッピングを得ること，(3)特徴マッピングを消費者向けにデザインし，特徴を見える化したポスタ

＊1　食品開発部
＊2　企画・デザイン部
＊3　宮崎市ぎょうざ協議会
＊4　食品開発センター

ーを作成することを目的とした．なお，「あっさり系か，こってり系か」の特徴を評価するためには官能評価を実施する必要があるが，餃子 20 種類のこれらの感覚を評価することは困難であったため，代わりに餡の「粗脂肪含量」および「加熱した餡を圧縮した際に出てくる液体量(以下「多汁性」という.)」を分析した.

2　実験方法

2－1　サンプル

宮崎市ぎょうざ協議会の会員 20 店舗の餃子 20 種類（表 1）をサンプルとした.

2－2　アンケート

会員 20 店舗にサンプルに関するアンケートを実施し，「餡の肉と野菜の重量割合」，「肉の種類」，「主な野菜の種類」，「ニンニクの使用重量」，「餃子 1 個当たりの餡の重量」および「餃子の特徴（自由記述）」について情報を収集した.

2－3　機器分析

会員 20 店舗からサンプルの餡および皮を入手し，餡の「粗脂肪含量」および「多汁性」ならびに「皮の厚さ」を次のとおり測定した.

粗脂肪含量　粗脂肪含量の測定は，食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル [3]の方法を改変して行った．すなわち，餡を 10 g 量り取り，海砂 10 g と混ぜ合わせて 105℃で 3 時間乾燥した．三角フラスコに乾燥物を入れ，無水硫酸ナトリウムを 5 g 加えて潰しながら粗粉砕した．得られた混合物にジエチルエーテルを 60 ml 加え，160 rpm で 12 時間以上振とうした. ろ過してジエチルエーテル相を回収し，エバポレーター，次いで窒素気流によりジエチルエーテルを留去した後, 105℃で 1 時間乾燥した. デシケーター内で放冷して残留物の重量を測定し，粗脂肪含量（餃子 1 個当たりの餡の粗脂肪重量 g）を算出した. 同一サンプルにつき 3～5 回測定を行った.

多汁性　多汁性は，加熱した餡を一定圧力で一定時間圧縮することで測定した. 量り取った餡 10 g をナイロンろ布で包んだ上で，ナイロン袋に入れて密封した. 95℃のお湯にナイロン袋を浸漬し，15 分間加熱した後, 3 分間放冷した. ナイロン袋を開封し，ナイロンろ布に包まれた餡を 50 ml シリンジの中に入れ，ピストンの上に 5 kg の重りを乗せて 5 分間圧縮した（図 1）．シリンジ先から出てきた液体の重量を測定し，多汁性（餃子 1 個当たりの餡から出てくる液体重量 g）を算出した．同一サンプルにつき 5 回測定を行った.

表 1　研究対象の餃子

店舗所在地	店舗名	餃子の名称
宮崎市	一真	スパイス香る肉屋こだわりの餃子
	黒兵衛 中央通り店	焼き餃子
	802 GYOZA	元祖 宮崎鶏餃子
	響	宮崎牛餃子
	ひろき家	ひろき家 餃子
	屋台骨	宮崎餃子 屋台骨
	悠瑠里	悠瑠里 特製 餃子
	らーめん椛	らーめん椛 餃子
	りょう GARDEN	和製みやざき餃子
延岡市	辛麺屋桝元	桝元 宮崎餃子
小林市	山之口畜産	やまちくアン黒 牛肉餃子
日向市	餃子の里	餃子の里 白(プレーン)餃子
三股町	生餃子製造直売 ハチサンイチ	831 肉餃子
高鍋町	ぎょうざの樹樹	樹樹のぎょうざ
	餃子の馬渡	もっちり餃子
	黒潮工房	まさとの黒豚ギョーザ
	昇龍飯店	焼餃子
	たかなベギョーザ	たかなベギョーザ
	中国料理 吉宝	焼き餃子
	鶏専家 一本気	羽ばたけ鶏餃子

図 1　多汁性の測定（餡圧縮時の様子）

皮の厚さ　湯煎後の皮の厚さを測定した．皮 1 枚から概ね 1 cm×3 cm の試験片を最大 2 枚切り出し，それぞれ試験に供した．試験片を 2 分間湯煎し，表面の水分を軽く拭き取って密閉容器内で放冷した後，

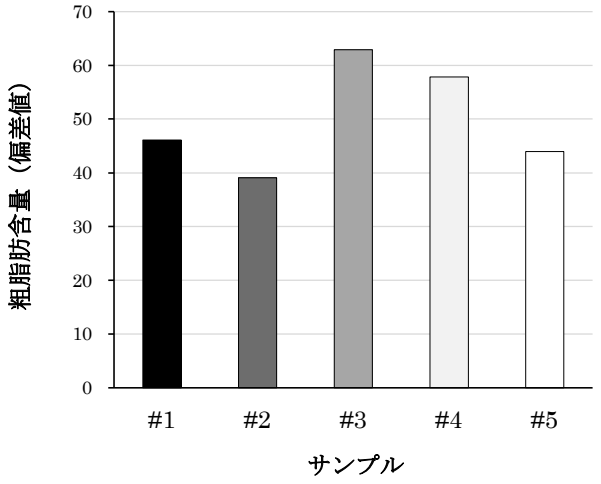


図 2　餃子 5 種類（野菜率 70%）の粗脂肪含量の比較

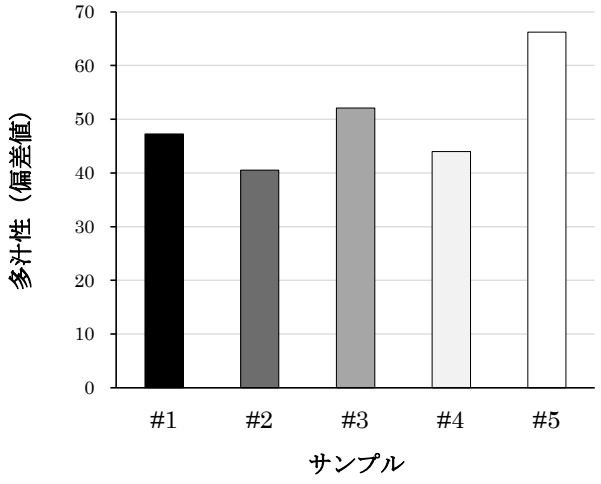


図 3　餃子 5 種類（野菜率 70%）の多汁性の比較

クリープメータ（㈱山電，RE2-33005C）を用いて試験片の中心部分の厚さ（mm）を測定した．同一サンプルにつき 15 回（試験片 15 枚）測定を行った．

２－４　データ解析

粗脂肪含量，多汁性および皮の厚さの測定結果は，サンプルを固定効果とした一元配置分散分析を行った．餡の野菜割合（野菜重量 g/肉および野菜の重量 g），粗脂肪含量，多汁性および皮の厚さについて，各餃子の平均値を変数として，相関行列を用いた主成分分析を行った．全てのデータ解析には，XLSTAT（Addinsoft, Ver.2022.2.1.1304）を用いた．

２－５　ポスター作成

主成分分析およびアンケートの結果を消費者向けにデザインし，ポスターを作成した．

３　結果および考察

３－１　素材の特徴

アンケート結果から，餡の野菜割合は肉多めの 40%から野菜中心の 80%まで幅広く，さらに肉の種類は豚肉，牛肉，鶏肉ならびに豚肉および牛肉の混合があり，餡の素材が多種多様であることが分かった．野菜の種類はキャベツを中心とした餃子が多いが，キャベツ以外に玉ねぎ，ニラ，白菜など，素材の違いが見られた．餃子 1 個当たりのニンニク使用重量についても，餃子によって違いがあり，消費者にとって重要な情報と思われた．そのほか，特徴的な素材について自由記述により情報を得ることができた．

表 2　PC1 および PC2 の因子負荷量

主成分	野菜割合	粗脂肪含量	多汁性	皮の厚さ
PC1	−0.74	0.73	0.77	−0.43
PC2	0.03	0.31	0.23	0.88

３－２　粗脂肪含量および多汁性の測定結果

粗脂肪含量および多汁性を測定した結果，いずれもサンプルの効果は有意（$p<0.05$）であり，餃子によって違いがあることが分かった．例えば餡の野菜割合が同じ 70%の餃子 5 種類（#1～#5）について，これらの結果から各餃子の偏差値を計算し，粗脂肪含量を図 2，多汁性を図 3 に示した．野菜と肉の割合が同じ餃子であっても，粗脂肪含量，多汁性ともに違いが見られた．

３－３　皮の厚さの測定結果

皮の厚さについてもサンプルの効果は有意（$p < 0.05$）であり，餃子によって違いが認められた．各餃子の皮の厚みの平均値は 0.66 mm～1.41 mm であった．皮の最も薄い餃子と最も厚い餃子で 2 倍程度の違いがあり，餃子によって皮の厚さに特徴が見られた．

３－４　特徴マッピングの作成

各餃子の特徴を一元的に把握するため，野菜割合，粗脂肪含量，多汁性および皮の厚さを用いて主成分分析を行った．その結果，PC1（第 1 主成分）と PC2

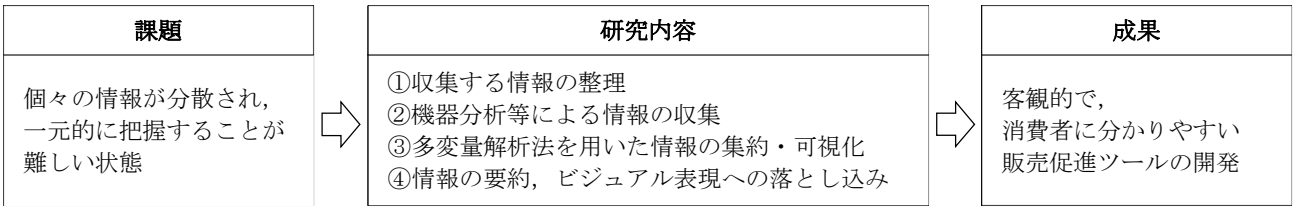


図 4　研究プロセス

（第 2 主成分）の寄与率はそれぞれ 47%，23%であり，PC2 までに 7 割の情報が集約された．PC1 および PC2 の因子負荷量は表 2 のとおりであった．各餃子の主成分得点を散布し，特徴マッピングを得た．

３－５　特徴を見える化したポスターの作成

得られた特徴マッピングおよびその他特徴を基に「餃子の食べ比べの提案」をコンセプトにポスター作成を行った．特徴マッピングの PC1 の因子負荷量から多汁性を「肉汁量」と解し，PC1 は「野菜系⇔肉汁多め」と解釈した．PC2 は，皮の厚さの因子負荷量が大きいことから，「薄皮⇔皮厚め」と解釈した．また，餡の肉の種類に特徴があったため，凡例を餃子の形として肉の種類によって色分けするなど，特徴マッピングを消費者向けにデザインし，ポスターに掲載した．

ポスターには「食べ比べる」というアクションへのきっかけづくりのため，キャッチコピーやイラストを配置したほか，特徴マッピング以外の情報は，別欄を設けて示した．別欄には餡の肉と野菜の割合をバーの比率で示すとともに，肉の種類と主な野菜を示した．餃子 1 個当たりのニンニク使用重量は，重量から 5 段階にレベル分けし，レベルを星の数で示した．また，各会員から収集した餃子の特徴（自由記述）を掲載することで，特徴的な素材など，不足する情報を補足した．

作成したポスターを図 5 に示した．ポスターから餡は野菜系から肉汁多めまで幅広く分布し，さらに肉の種類や皮の厚さなどにも特徴があることが確認でき，「宮崎ぎょうざ」には多様な餃子があることを一元的・視覚的に表現することができた．

４　まとめ

本研究では，餃子 20 種類の特徴の見える化に取り組んだ．本研究のプロセスを図 4 に整理した．各餃子の特徴に関する情報は分散され，一元的に把握することが難しい状態であったため，①餃子の違いについて消費者からよく質問される項目から収集する情報を整理した上で，②アンケートおよび機器分析により情報を収集し，③次いで収集した複数の情報を多変量解析法の一つである主成分分析を用いて集約・可視化，④そして集約された情報を要約し，消費者向けのビジュアル表現への落とし込みを行った．この結果，客観的で，消費者に分かりやすい販売促進ツールを開発することができた．

各餃子の特徴を見える化することで，消費者に対して「餃子を食べ比べる」，「好みの餃子を選ぶ」といった新たな選択肢が提供でき，「宮崎ぎょうざ」の更なる消費拡大への貢献が期待される．

５　参考文献

1) 永田靖，棟近雅彦：多変量解析法入門，サイエンス社，132（2018）
2) 吉田順子，添田博，菊池英夫，神山かおる，早川文代：日本食品科学工学会誌，**56**-2，85-94（2009）
3) 齋藤薫，奥村寿章，曽和拓，佐久間弘典，山田信一：食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル，独立行政法人家畜改良センター，7-9（2010）

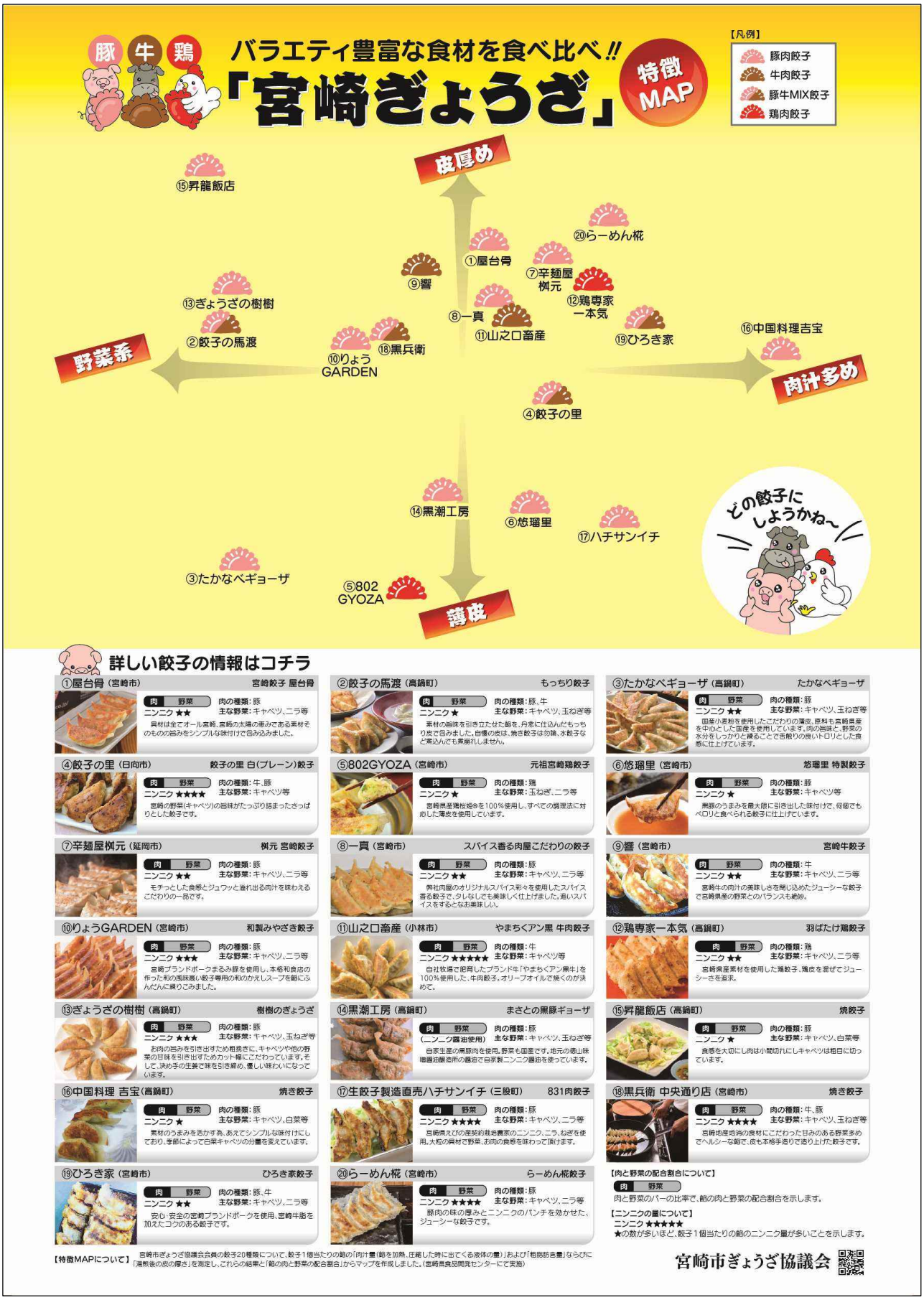


図５　ぎょうざ特徴を見える化したポスター

畜産副生物を活用した食品素材開発*

有簾　真奈美*1・永山　志穂*1・福良　奈津子*2・高橋　克嘉*1

Development of Food Materials Utilizing Livestock by-Products

Manami ARIKADO, Shiho NAGAYAMA, Natsuko FUKURA and Katsuyoshi TAKAHASHI

畜産副生物を原料とした肉醤を開発するため，副生物原料の成分分析を行うとともに，麹の種類や醤油乳酸菌等の添加について検討した．成分分析の結果，いずれの副生物も酸分解後のグルタミン酸等が多く，肉醤化による旨味の増加が期待された．醤油麹，米麹および麦麹を用いて肉醤を調製した結果，プロテアーゼ活性の高い醤油麹を使用することで遊離アミノ酸が増加し，官能評価も良い結果が得られた．さらに，醤油乳酸菌等を添加することで，風味良好となる傾向がみられた．豚腎臓と種類の異なる醤油麹を用いてスケールアップ試験を行った結果，丸大豆より脱脂大豆を原料とする醤油麹を用いた方が，副生物特有の臭いが抑制され風味良好であった．

１　はじめに

当県は国内でも有数の畜産県であり，牛は全国で3番目に多い25万頭，豚は全国2番目の80万頭が飼養されている[1]．畜産副生物は，牛や豚の生体から枝肉と原皮を除いたものの総称であり，頭，内臓，脚，血液などが該当する．一頭あたりから発生する畜産副生物は牛が280 kg，豚が35 kgと推計されており[2]，そのうち舌や肝臓などは食用にされているが，畜産副生物の大部分は特有の臭いがあることや，腐敗しやすいことから，食品としての利用は進んでいない．

前報[3]において，麹菌の作用によって畜産副生物の特有の臭いが抑えられることが確認された．さらに，豚腎臓を麹原料とした肉麹，茹でた豚腎臓および食塩水を加えて発酵させた醤油様の調味料（以下「肉醤」という．）を調製したところ，香ばしい匂いを呈した反面，特有の臭みの低減は十分でなかったため，さらなる消臭が課題であった．

このため，畜産副生物を用いた肉醤に着目し，特有の臭みをさらに抑え，かつ，よりし好性の高い肉醤を調製するため，各種畜産副生物を用いて条件の検討を行うこととした．肉醤の原料に使用する麹は，醤油麹のほか，米麹および麦麹を利用することで，麹の種類による香味の違いが考えられた．また，通常の醤油は，乳酸菌や酵母の働きで醤油特有の香りが付与されるため，醤油乳酸菌および醤油酵母（以下「乳酸菌等」という．）を添加することで，より良好な香りが得られることが推測された．

そこで本研究では，肉醤の調製における基礎的データを得ることを目的に，麹の種類および乳酸菌等の添加が肉醤の品質に及ぼす影響を評価し，これら条件を絞り込んだ上で，スケールアップ試験を実施したので，その結果を報告する．

２　実験方法

２－１　試料

県内の食肉加工メーカーから，食用利用率の低い畜産副生物として，牛と豚の腎臓，脾臓および肺を入手した（図1）．

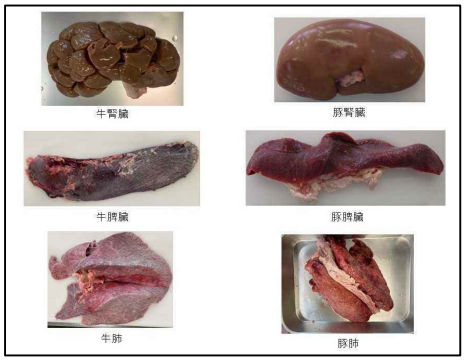


図１　肉醤原料用に入手した畜産副生物

＊宮崎県産業廃棄物税基金充当事業
＊畜産副生物を活用した食品素材開発（第２報）
＊1　食品開発部
＊2　応用微生物部

凍結保存された畜産副生物 6 種類をそれぞれ，解凍後に余分な管や薄皮などを取り除き，3 cm 角程度にカットした．カットした畜産副生物の一部はミンチ機で処理し粗い「ミンチ状副生物」とし，カットした畜産副生物の残りは，凍結乾燥機で乾燥させた後，0.5 mm フィルターを取り付けた粉砕機で粉砕して「乾燥状副生物」とした．

各畜産副生物の成分を把握するため，ミンチ状副生物または乾燥状副生物を用いて一般成分，無機成分およびアミノ酸を分析した．

２－２　一般成分分析

２－２－１　粗タンパク含量

粗タンパク含量は，ケルダール法で測定した．分解管に乾燥状副生物 0.5 g を量り取り，分解促進剤と硫酸 14 ml を加え分解装置で 2.5 時間加熱分解した後，ケルダール分析装置(㈱アクタック，1500 型)を用いて測定し，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含量を算出した．

２－２－２　粗脂肪含量

粗脂肪含量は，ソックスレー抽出法で測定した．ミンチ状副生物を 50 ml ビーカーに 3 g 量り取り，ケイソウ土 2.5 g を加えてガラス棒でよく混ぜながら，ホットプレート上で乾燥するまで加熱した．乾燥した試料を乳鉢に移し，無水硫酸ナトリウムと海砂をそれぞれ 2.5 g 加えてよくすり潰した後，円筒濾紙に入れ，脂質迅速抽出装置(三田村理研工業㈱，FE-6S)を用いてジエチルエーテルで抽出を行った．抽出物の入った脂肪瓶を 105℃の乾燥機で乾燥し，1 時間冷却した後，重量を測定して粗脂肪含量を算出した．

２－２－３　水分含量

水分含量は，常圧加熱・乾燥助剤法で測定した．アルミ容器にミンチ状副生物 4.5 g と海砂 23 g を入れて十分に混合し，常圧条件下にて 135℃で 1 時間加熱し，45 分間放冷した後，重量を測定して水分含量を算出した．

２－２－４　灰分量

乾燥状副生物 1 g を電気炉により 550℃で 5.5 時間加熱し，1 時間放冷後，重量を測定して灰分量を算出した．

２－２－５　炭水化物量

炭水化物量は，粗タンパク含量，粗脂肪含量，水分含量，および灰分量の合計を 100 から差引いた値とした．

２－３　無機成分分析

乾燥状副生物 0.5 g，硝酸 6 ml および過酸化水素 1 ml を専用容器に加え，高速試料分解装置（パーキンエルマージャパン㈱，Multiwave3000）を用いて分解処理を行った．冷却後，溶液を純水で 100 ml にメスアップしたものを分取し，ICP 発光分光分析装置（㈱島津製作所，ICPS-7510）を用いて測定した．

２－４　アミノ酸分析

２－４－１　遊離アミノ酸量

乾燥状副生物 0.5 g に 0.02 mol/l 塩酸を 70 ml 加え，超音波を当てながら 10 分間抽出した後，100 ml にメスアップし，適量を遠心分離した．上澄みを 2 ml 分取し，トリクロロ酢酸溶液を等量加え，除タンパクを行った．上澄みを 2 ml 分取し，等量のヘキサンを加えて脱脂を行った後，0.2 μm フィルターバイアルを用いてろ過したものを測定に供した．高速アミノ酸分析計（㈱日立製作所，L-8900 型）を用いてニンヒドリン発色法によりタンパク質構成アミノ酸を測定した．

２－４－２　酸分解アミノ酸量

乾燥浄福生物 0.007 g と 6 mol/l 塩酸を 1 ml バキュームリアクションチューブに加え，脱気した後，常圧下で 110℃に設定したブロックヒーターで 22 時間加熱した．加熱後，エバポレーターを用いて乾固させたものを 0.02 mol/l 塩酸で希釈し，0.2 μm フィルターバイアルを用いてろ過したものを，遊離アミノ酸量と同様に高速アミノ酸分析計を用いて測定した．

２－５　麹のプロテアーゼ活性の測定

肉醤の原料用に 5 種類の麹（表 1）を入手し，それぞれのプロテアーゼ活性を測定した．測定は，し

表 1　肉醤原料用に入手した麹

麹	麹原料	入手方法
米麹	米	市販品（県内麹店）
麦麹	麦	市販品（県内麹店）
醤油麹 A	小麦，脱脂大豆	県内醤油メーカーから譲渡
醤油麹 B	小麦，丸大豆	市販品(県外醤油メーカー)
醤油麹 C	小麦，丸大豆	市販品(県外醤油メーカー)

ょうゆ試験法[4]の全プロテアーゼ活性測定に基づき行った．

２－６　肉醤の調製

麹は，米麹および麦麹と，醤油麹の中でプロテアーゼ活性が最も高かった醤油麹を選定し，畜産副生物 6 種類にそれぞれ 3 種類の麹を加えた後，条件を変えた発酵処理を行い 54 種類の肉醤を調製した．

２－６－１　前処理

ミンチ状副生物を 1%食塩水で 85℃, 30 分間加熱した後，網目 2 mm のザルでろ過した．回収した固形分 315 g に食塩 105 g，麹 70 g および水 210 g を加えて混合し，「発酵前肉醤」とし，速醸発酵と乳酸菌等添加後発酵のサンプルに供した．

２－６－２　速醸発酵

通常の醤油の発酵は常温で半年から 1 年間程度行う必要があるが，本研究では時間短縮を図るため，庫内温度 50℃のインキュベーターで発酵前肉醤を 2 週間発酵させた（以下，50℃下で発酵させることを「速醸」という．）．

2 週間速醸後，50 g を「速醸 2 週間サンプル」，300 g はさらに 2 週間速醸を追加し「追加速醸サンプル」，350 g は「乳酸菌等添加サンプル」として 3 つに分割した．

２－６－３　乳酸菌等添加後発酵

乳酸菌等添加サンプルは，温度を 30℃まで下げ，醤油乳酸菌培養液と醤油酵母培養液をそれぞれ 0.5 ml ずつ添加し，30℃下で発酵を行った．使用した乳酸菌等は，当センターが保有する微生物データベースの中から，醤油乳酸菌は，*Tetragenococcus halophilus* MS0204[5]，醤油酵母は *Zygosaccharomyces rouxii* 160Y1 を用いた．

発酵は添加乳酸菌数が減少するタイミングで終了するものとしたことから[6]，乳酸菌数が低下すると考えられる 8 週間後を発酵の終了とした．

２－６－４　発酵後処理

発酵後は，不織布製の袋に入れて圧搾し，搾汁液を 85℃で 20 分間火入れした後，冷蔵庫で 3 日間静置することで沈殿物を自然ろ過し，上澄みを肉醤（以下「速醸 2w 肉醤」，「速醸 4w 肉醤」，「乳酸菌等添加肉醤」という．）とした．

２－７　調製した肉醤の評価

調製した肉醤は，2-4-1 の方法で遊離アミノ酸量を測定した．また，乳酸菌が肉醤もろみ中で生育していたかを確認するために，有機酸分析計（㈱島津製作所, CMBM-20AAlite）を用いて乳酸量を測定した．

速醸 4w 肉醤および乳酸菌等添加肉醤については，試験者 4 人で官能評価試験を行った．香りおよび味について，良好なものを 1 点，普通のものを 2 点，食用として良好でないものを 3 点，食用として適さないものを 4 点と評価し，平均値を官能得点とした．

２－８　肉醤調製のスケールアップ試験

調製した肉醤のアミノ酸量と官能評価の結果等をもとに，畜産副生物の種類，麹の種類および発酵条件を選定し，スケールアップ試験を行った．2-6 と同様の方法により，畜産副生物のミンチ状副生物を食塩水で加熱し，回収した固形分 1800 g，食塩 600 g，麹 400 g および水 1200 g を混合して発酵処理を行った．得られた肉醤の収率を求め，2-7 と同様に遊離アミノ酸量の測定および官能評価を実施した．

３　結果および考察

３－１　畜産副生物の成分分析結果

各畜産副生物の粗タンパク含量，粗脂肪含量，水分含量，灰分量および炭水化物量を表 2 に示す．畜産副生物のうち最も高い値を示したものは，粗タンパク含量が牛脾臓，粗脂肪含量が豚腎臓，炭水化物量が牛肺であった．水分含量および灰分量には大きな違いはみられなかった．

無機成分の測定結果を表 3 に示す．造血器官である脾臓は鉄が多く含まれており，特に牛脾臓で高かった．ナトリウムは腎臓に多く含まれていた．肺は

表 2　畜産副生物の一般成分の分析結果

(g/100g)

	牛			豚		
	腎臓	脾臓	肺	腎臓	脾臓	肺
粗タンパク含量	13.8	16.7	15.0	15.1	13.5	14.4
粗脂肪含量	3.3	3.4	2.3	4.4	1.8	2.8
水分含量	81.2	78.5	79.6	79.3	81.7	81.0
灰分量	1.1	1.3	0.8	1.2	1.2	1.1
炭水化物量	0.6	0.1	2.3	0.0	1.8	0.7

特に多く含まれている成分はなく，腎臓および脾臓と比較するとマグネシウムが少なかった．

遊離アミノ酸量および酸分解アミノ酸量を表 4 に示す．遊離アミノ酸の結果をみると，牛の副生物からはアスパラギン酸が検出されなかった．また，同じ部位でも豚より牛の方が遊離アミノ酸量は多く，特に牛脾臓は遊離アミノ酸の数値が全体的に高い傾向が見られた．酸分解アミノ酸は，いずれの畜産副生物も旨味成分であるアスパラギン酸およびグルタミン酸の濃度が高く，タンパク質の分解によって旨味成分が増加することが期待された．

表 3　畜産副生物の無機成分の分析結果

(mg/100g)

	牛			豚		
	腎臓	脾臓	肺	腎臓	脾臓	肺
Na	154.7	56.9	134.4	129.3	47.2	122.2
Mg	14.6	14.6	12.8	15.7	16.3	11.5
K	173.0	274.5	234.6	204.3	265.6	197.4
Ca	13.7	3.9	8.0	6.7	3.6	7.8
Fe	4.9	148.4	8.7	3.3	20.6	8.2
Zn	1.6	2.1	1.7	2.3	2.3	1.4

３－２　麹のプロテアーゼ活性の測定結果

各麹のプロテアーゼ活性を表 5 に示す．米麹は，ほかの麹と比較して活性が低かった．これは米麹のタンパク質含量が麦や大豆と比較して少ないためと考えられる．醤油麹は，米麹および麦麹と比較して高い酵素活性を示した．醤油麹間で比較すると，醤油麹 A が最も高かった．

表 4　畜産副生物のアミノ酸量の分析結果

(mg/100g)

	遊離アミノ酸量						酸分解アミノ酸量					
	牛腎臓	牛脾臓	牛肺	豚腎臓	豚脾臓	豚肺	牛腎臓	牛脾臓	牛肺	豚腎臓	豚脾臓	豚肺
Asp	0.0	0.0	0.0	6.3	47.9	25.4	1115.1	1423.0	1623.9	1214.7	1087.7	1220.1
Thr	20.1	30.0	1.8	17.3	9.2	12.7	598.2	719.1	810.9	617.8	514.7	566.0
Ser	27.8	52.0	4.3	19.7	10.5	14.9	634.0	770.8	911.1	649.2	566.5	669.5
Asn	10.3	40.2	5.3	7.2	6.5	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Glu	128.0	185.9	86.8	107.7	109.4	79.5	1585.3	2065.6	2357.5	1773.7	1599.2	1641.8
Gln	16.2	50.8	15.7	14.2	15.0	13.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Gly	55.6	86.4	101.6	56.7	32.7	55.8	798.2	1032.3	1883.9	905.8	790.7	1300.7
Ala	33.5	74.1	23.2	36.1	13.4	19.4	746.4	1111.9	1394.9	805.6	753.6	1050.1
Val	19.2	48.5	13.4	13.1	11.9	9.6	672.6	913.6	1083.5	752.4	642.2	827.6
Cys	5.0	1.5	2.3	1.9	1.7	0.9	161.8	173.2	198.6	191.7	124.4	153.1
Met	8.3	25.8	4.7	5.6	4.6	3.5	283.8	345.2	367.3	265.9	228.7	248.8
Ile	12.2	30.2	7.7	8.0	7.1	6.2	489.3	550.0	646.1	553.6	416.6	415.0
Leu	28.2	71.4	18.3	18.2	23.6	14.1	1083.8	1377.8	1563.6	1166.3	997.7	1196.2
Tyr	15.6	36.7	9.5	9.6	8.4	7.3	484.1	570.5	628.4	506.0	405.3	445.6
Phe	16.6	42.4	11.0	10.3	11.9	7.7	577.3	728.0	836.4	637.1	517.8	631.4
Trp	9.0	10.4	2.8	3.0	3.4	1.3	0.0	0.0	0.0	1.1	0.5	0.0
Lys	29.2	68.5	19.3	16.1	11.6	19.4	885.9	1214.6	1338.4	913.8	865.7	987.2
His	10.9	26.3	6.3	5.8	5.7	4.6	342.5	474.9	493.3	333.9	306.3	441.9
Arg	15.1	51.5	13.7	8.0	9.4	11.0	805.1	1001.1	1287.7	915.9	798.7	895.4
Pro	22.0	34.1	10.4	11.8	6.5	14.6	638.4	806.3	1255.9	694.4	596.6	863.2
合計	482.8	966.8	358.0	376.7	350.5	327.6	11901.8	15277.8	18681.4	12898.8	11212.7	13553.5

３－３　肉醤の調製と評価結果

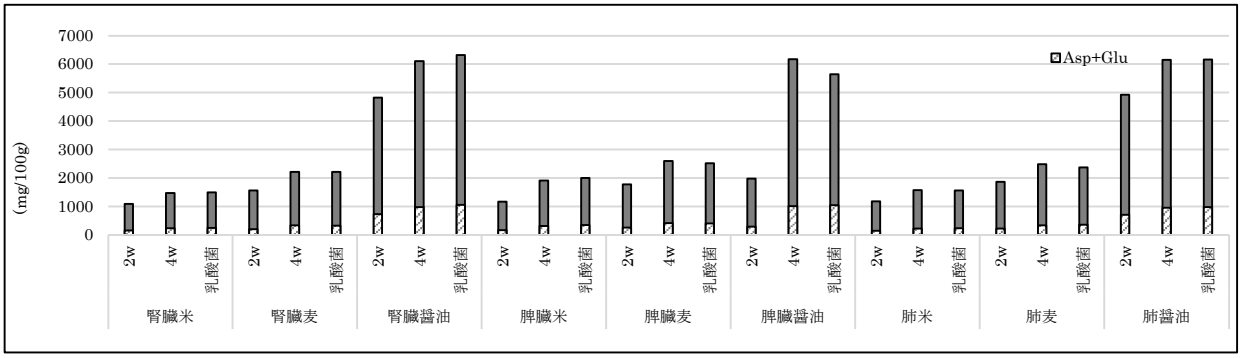
米麹および麦麹ならびに醤油麹のうちプロテアーゼ活性が最も高かった醤油麹Ａを用いて肉醤の調製を行った．調製した肉醤の遊離アミノ酸量について，牛由来肉醤の結果を図 2，豚由来肉醤の結果を図 3 に示す．総アミノ酸量は高い方から，醤油麹，麦麹，米麹の順となった．旨味を呈するアスパラギン酸およびグルタミン酸の合計も同じ順に高かった．速醸 2w 肉醤は，他の発酵条件と比較してアミノ酸量が少なかったため，発酵期間 2 週間では不十分であったと考えられた．乳酸菌等添加肉醤は，発酵温度が 30 ℃と低い条件であったが，4 週間速醸させたものと同等量のアミノ酸が産生された．これは発酵期間が長いためと考えられた．

表 5　麹のプロテアーゼ活性の測定結果

(units/g)

麹	プロテアーゼ活性
米麹	59.0
麦麹	88.7
醤油麹 A	497.6
醤油麹 B	439.2
醤油麹 C	242.6

次に調製した肉醤の乳酸量を図 4 に示す．乳酸菌等添加肉醤について，一部の原料組合せにおいて乳酸が多く産生されていた．麹の種類による乳酸産生



※全遊離アミノ酸の合計量のうち，Asp および Glu の量を白抜きで示した．2w：速醸 2w 肉醤，4w：速醸 4w 肉醤，乳酸菌：乳酸菌等添加肉醤．以下図 3 において同じ

図 2　牛由来肉醤のアミノ酸量の測定結果

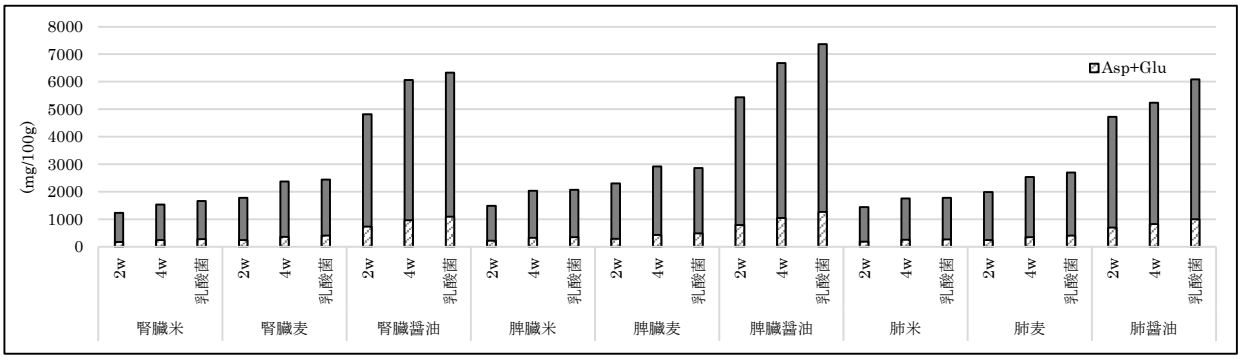


図 3　豚由来肉醤のアミノ酸量の測定結果

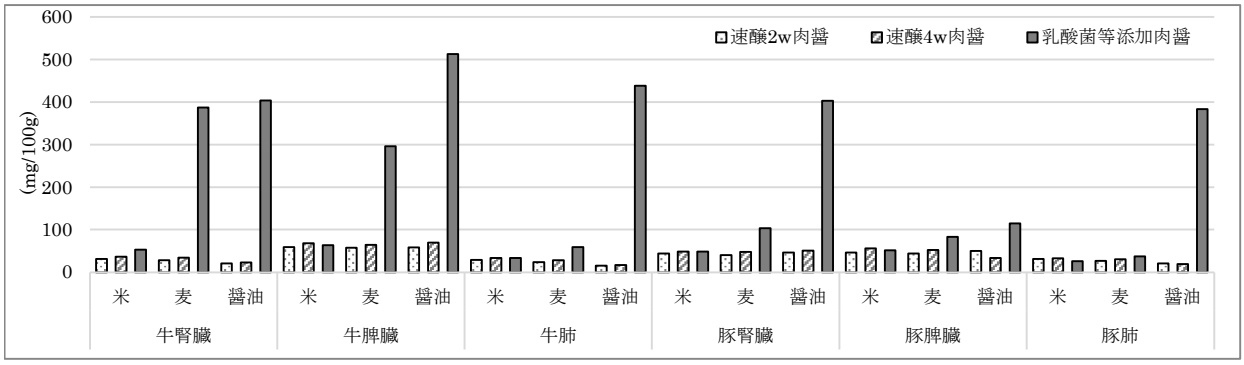


図 4　肉醤の乳酸量の測定結果

量を比較すると，高い方から醤油麹，麦麹，米麹の順であった．これは乳酸菌添加直前のアミノ酸量の傾向と同様であり，乳酸菌の増殖に必要なアミノ酸[7]の量が多いためと考えられた．アミノ酸産生量の多い醤油麹を用いることで乳酸発酵が進み，醤油特有の香りが付与できることが期待された．

速醸 4w および乳酸菌等添加肉醤油の官能評価を実施し，その結果を表 6 に示す．アミノ酸が多く産生していた醤油麹で良好な結果が得られた．また，豚由来肉醤の方が全体的に高い評価になる傾向があった．部位ごとにみると，牛，豚ともに評価の高い方から脾臓，肺，腎臓の順となった．乳酸菌等添加の有無を比較すると，乳酸菌等を添加したものの方が味，香りともに良い傾向が見られた．このことから，高温で麹の持つ酵素による分解をさせた後，温度を下げて乳酸菌等を添加して発酵を継続する方法により，短期間で乳酸菌等の効果による醤油様の香りや味を呈することが分かった．

表 6　肉醤の官能評価結果

(点)

			速醸 4w 肉醤		乳酸菌等添加肉醤	
種類	部位	麹	香り	味	香り	味
牛	腎臓	米	4.0	2.8	3.5	3.3
		麦	4.0	2.3	4.0	3.3
		醤油	3.0	2.0	3.8	1.8
	脾臓	米	2.8	2.5	2.8	2.5
		麦	3.5	2.8	3.0	2.5
		醤油	3.3	2.3	2.8	1.5
	肺	米	3.3	2.3	3.3	2.5
		麦	3.0	2.0	3.0	2.8
		醤油	2.3	1.8	2.3	1.8
豚	腎臓	米	3.5	2.8	3.3	3.8
		麦	4.0	2.8	3.5	2.8
		醤油	2.0	1.8	2.5	1.8
	脾臓	米	3.0	2.5	3.0	2.5
		麦	3.5	2.0	2.5	1.8
		醤油	1.8	1.5	2.0	1.0
	肺	米	2.3	2.5	3.0	2.5
		麦	2.8	2.0	2.8	2.5
		醤油	2.5	1.3	2.0	1.3

３－４　肉醤調製のスケールアップ試験の結果

プロテアーゼ活性が高く，アミノ酸産生量の多い醤油麹を用いることで風味良好な肉醤が得られたことから，麹の種類は醤油麹が最も適当と判断した．このため，醤油麹を用いた肉醤のスケールアップ試験を行った．使用した醤油麹は，最もプロテアーゼ活性の高い醤油麹 A のほか，醤油麹 B および醤油麹 C も用いることで，醤油麹の種類の違いも確認することとした．発酵条件は，速醸 4w 肉醤および乳酸菌等添加肉醤の二つの条件を用いた．原料とする畜産副生物については，醤油麹を用いた場合，豚由来ではいずれの部位も官能評価結果が良好であったことから，入手のしやすさも考慮した上で，豚の腎臓を用いることとした．以上の調製条件により，6 種類の肉醤を調製した．

調製した肉醤の収率を表 7 に示す．三上ら[8]は豚挽肉，麹，食塩および酵素を原料に 30℃下で肉醤を調製し，発酵 1 ヶ月で約 60%の収率であったことを報告している．今回の結果はそれには及ばなかったが，同じように発酵の際に酵素を添加することで収率が増加すると考えられる．

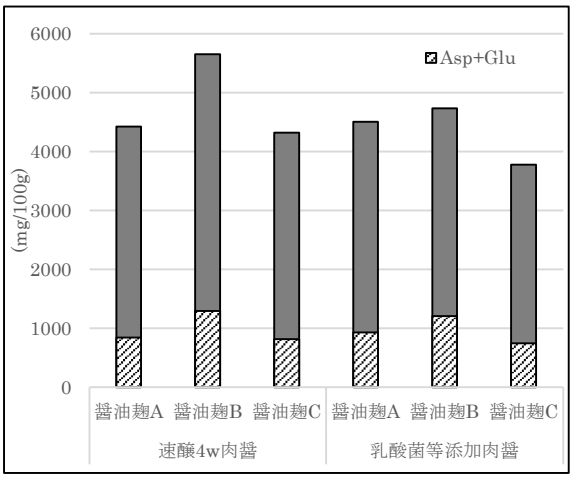
次に，遊離アミノ酸量の測定結果を図 5 に示す．アミノ酸量および旨味成分量は，醤油麹 B を使用した速醸 4w 肉醤が最も高く，醤油麹 C を使用した乳酸菌等添加肉醤が最も低かった．この理由としては，プロテアーゼ活性の違いに加え，収率の違いも影響しているものと考えられる．

最後に，官能評価の結果を表 8 に示す．小規模で調製したときとスケールアップしたときで，味や香りに大きな違いはみられなかった．乳酸菌等添加肉醤において，醤油麹 B および C よりも醤油麹 A が良好な結果であった．醤油麹 B および C は小麦と丸

表 7　スケールアップ試験での収率

(%)

	醤油麹	収率
速醸 4w 肉醤	醤油麹 A	55.5
	醤油麹 B	37.7
	醤油麹 C	45.2
乳酸菌等添加肉醤	醤油麹 A	44.1
	醤油麹 B	38.4
	醤油麹 C	49.2



※全遊離アミノ酸の合計量のうち，Asp および Glu の量を白抜きで示した．

図 5　スケールアップ試験で得られた肉醤の遊離アミノ酸量の測定結果

大豆が原料であるのに対し，醤油麹 A は小麦と脱脂大豆が原料である．脱脂大豆または丸大豆を原料とした醤油を比較すると，脱脂大豆を原料とした醤油の方がより香りが強いという報告があることから[9]，醤油麹 A のような脱脂大豆を原料とした醤油麹は，畜産副生物特有の臭いをマスキングするのにより適していると考えられた．また，乳酸菌等添加肉醤は醤油麹 C の味の評価を除いて，速醸 4w 肉醤よりも香りと味が同等以上であった．

表 8　スケールアップ試験で得られた肉醤の官能評価結果

（点）

	醤油麹	香り	味
速醸 4w 肉醤	醤油麹 A	2.0	2.3
	醤油麹 B	2.3	2.3
	醤油麹 C	2.5	2.0
乳酸菌等添加肉醤	醤油麹 A	1.3	1.5
	醤油麹 B	2.3	2.0
	醤油麹 C	2.3	2.5

4　まとめ

本研究では，畜産副生物を用いた肉醤を開発するため，畜産副生物 6 種類と麹の最適な組合せや，乳酸菌等の添加を検討し，次の知見を得た．

・牛および豚の畜産副生物を酸分解することで，アスパラギン酸およびグルタミン酸の増加が確認されたことから，肉醤化による旨味の増加が期待された．

・米麹，麦麹および醤油麹を用いて肉醤を調製した結果，プロテアーゼ活性が高い醤油麹を使用することでアミノ酸が多く，風味も良好な肉醤が得られた．

・3 種類の醤油麹を用いた肉醤のスケールアップ試験では，丸大豆より脱脂大豆を原料とした醤油麹を用いた方が風味良好な結果が得られた．醤油麹を使用し，速醸を行うだけでもアミノ酸が豊富な肉醤を得ることができるが，さらに乳酸菌等を加えることで味と香りが向上する傾向が認められた．

以上の結果から，畜産副生物は，麹と最適な組合せを選定し，かつ乳酸菌および酵母を添加することで，新たな食品素材としての利用が可能になることが期待された．

5　参考文献

1) 宮崎県農政水産部畜産新生推進局：宮崎の畜産 2022(2022)

2) 公益財団法人日本食肉協議会：畜産副生物の知識,11(2016)

3) 有簾真奈美，福良奈津子，高橋克嘉，平川良子：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告，**65**，33-37(2020)

4) 財団法人日本醤油研究所：しょうゆ試験法，286-289(1985)

5) 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：醤油の研究と技術，**45**，265-273(2019)

6) 田中昭光：生物工学会誌，**90**-6, 320-323（2012）

7) 加藤丈雄：あいち産業技術総合センター食品工業技術センターニュース，平成 19 年度 1 月号，令和 5 年 5 月 16 日閲覧，https://www.aichi-inst.jp/shokuhin/other/shokuhin_news/2007/

8) 三上正幸, Nguyen Hien Trang,島田謙一郎, 関川三男, 福島道弘, 小野伴忠:日本食品科学工学会誌, **54**-4,152-159

9) 福島男兒：日本醸造協会誌，**92**-4，251-257(1997)

糖類ゼロのフルーツビール開発*

越智　洋*1・山本　英樹*1・福良　奈津子*1・水谷　政美*2・森　翔太*3

Development of Sugar-free Fruit beer

Hiroshi OCHI, Hideki YAMAMOTO, Natsuko FUKURA, Masami MIZUTANI and Shota MORI

糖化酵素と酵母の選抜を行い，副原料とホップの添加タイミングを検討することで，クラフトビール初の糖類ゼロのフルーツビールの製造条件を確立した．糖化酵素の選抜は，原料麦芽中のデンプンを酵母が資化可能な糖を多く生成し，ビールの官能評価が高い酵素２種類を選抜した．酵母の選抜は，立ち上がりが速く，比増殖速度が大きい２種類を選抜した．２種類の酵母は糖の資化性が異なっているので，同時に使用することで，麦汁中の残糖類を限りなくゼロに近づけることが可能となった．また，副原料として使用した日向夏果汁とホップの添加タイミングを検討することで，日向夏の特徴を有する糖類ゼロのフルーツビールの製造が可能となった．

１　はじめに

ビールのジャンルにおいて嗜好の多様化により，クラフトビールを好む消費者も多く，クラフトビールの出荷額は右肩上がりで増加しており，2017 年に約 300 社だったクラフトビールメーカーも 2022 年には，600 社以上にのぼる[1)]．一方，新型コロナウイルスの感染拡大による外出自粛ムードの中，「巣ごもり消費」による肥満や免疫力の強化を意識した更なる健康志向の上昇がみられ，ビール消費における，糖類オフ・ゼロ食品の市場規模拡大に拍車をかけている．ビール大手４社の糖類オフ系ビールの出荷量は増加しているが，ビールスタイルは類似している．そこで，我々は，消費者ニーズにマッチした製品を製造するため，大手メーカーでは取組が難しい低糖類のフルーツビールの開発を行い，時代に合わせ，かつ地域性の高い個性豊かなビールの実現を目指した．本報告では，酵素と酵母を選抜し，副原料とホップの添加タイミングを検討することで，日向夏の特徴を有する糖類ゼロのフルーツビールの製造条件を確立できたので報告する．

＊　公益財団法人宮崎県産業振興機構の「産学官共同研究開発支援事業」および県企業振興課の「地域産業技術研究開発支援事業」
＊1　応用微生物部
＊2　元　応用微生物部
＊3　宮崎ひでじビール株式会社

２　実験方法

２－１　供試酵素および酵母

酵素は，天野エンザイム㈱製の４種類の酵素を使用した．酵母は，宮崎ひでじビール㈱で自家培養した４種類の酵母を使用した．

２－２　糖化酵素の検討

麦汁の製造時に４種類の糖化酵素①～④を使用した場合の麦汁中に含まれる糖類の含有量を高速液体クロマトグラフ（日本分光㈱，ChromNAV PU-2089）により測定した．

２－３　酵母の検討

４種類の酵母 A～D について日向夏果汁を添加した麦汁中での増殖速度をバイオフォトレコーダー（ADVANTEC，TVS062CA）により測定した．

２－４　糖分析

麦汁もしくはビールを 0.45 μm メンブランフィルターでろ過し，試料溶液とし，高速液体クロマトグラフ（日本分光㈱，ChromNAV PU-2089）を用いて測定した．

２－５　試験醸造

ステンレス製タンクを使用し，常法により試験醸造を行った．酵素は麦芽の糖化工程の開始と同時に添加を行った．

２－６　香気成分分析

試験醸造したビールの香気成分について，ガスクロマトグラフ質量分析計（㈱島津製作所，GCMS-QP2010 Plus）を使用し，SPME ヘッドスペース法で分析を行った．

２－７　ビールの官能評価

酒類鑑評会品質評価経験者 4 名を含む 6 名の食品開発センター職員が 4 点法（1：秀，2：優，3：良，4：可）で行った.評点が小さい程，評価が高いことを示している．

３　結果および考察

３－１　糖化酵素の選定

酵素無添加と比較して①～④の酵素を使用した場合，麦汁中の糖類の量は 1.1 倍～1.3 倍になった．中でも糖化酵素①，④において，酵母が資化可能な単糖類，二糖類を多く生成することが確認された．酵素を使用した麦汁でビールを試験醸造し，官能評価を行ったところ，酵素①③の評価が高く，酵素無添加よりも高い傾向がみられた．麦汁における糖類の生成量，官能評価の結果および酵素の特性から酵素①③を選抜し，酵素①③を同時に使用することとした．

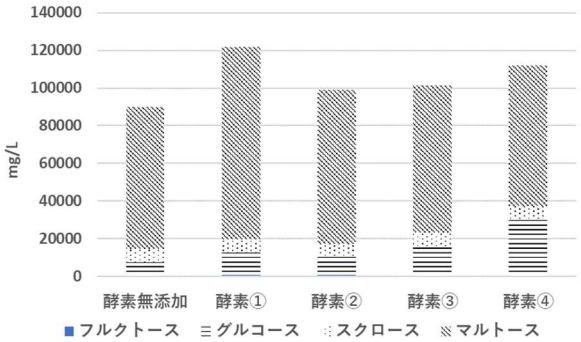


図１　酵素を使用した麦汁の糖分析結果

表１　酵素を使用したビールの糖分析結果

濃度(mg/L)

糖名	酵素無添加	酵素①	酵素②	酵素③	酵素④
フルクトース	608	560	0	300	0
グルコース	0	0	0	0	0
スクロース	0	0	0	50	0
マルトース	5170	7401	5044	3693	9883
マルトトリオース	342	0	0	0	0
合計	6121	7961	5044	4042	9883

表２　酵素を使用したビールの官能評価結果

サンプル名	点数	特記事項
酵素添加無し	2.3	フルーティ、うすい、土臭い、色うすい、透明、ホップ、苦味なし
酵素①	1.8	華やか
酵素②	2.0	適度な酸味あり、不調和、うすい、華やか、透明、キレある
酵素③	1.8	フルーティ、ぶどう様
酵素④	2.3	辛味

３－２　酵母の選定

日向夏を使用したビールの糖類ゼロを達成するために，日向夏果汁を添加した麦汁中での酵母 A，B，C，D の比増殖速度について，バイオフォトレコーダーで測定したところ，酵母 B と酵母 D の立ち上がりが早く，比増殖速度が大きかったので，酵母 B，D を使用することとした．

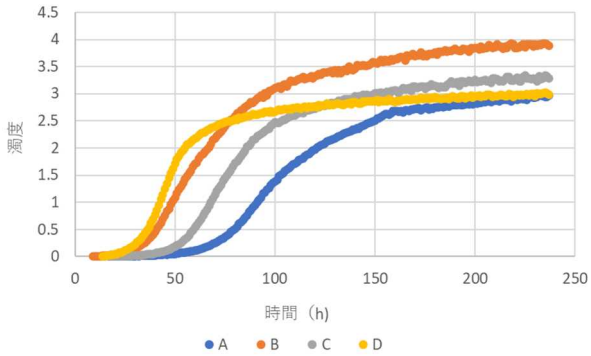


図２　酵母の増殖速度

３－３　選抜した酵素と酵母を使用した試験醸造

酵素 2 種類を添加した麦汁を使用し，酵母 B と酵母 D で試験醸造を行った．酵母 B を使用するとビール中のフルクトースとグルコースがゼロとなり，酵母 D を使用するとスクロースとマルトース，マルトトリオースがゼロとなった．酵母 B と酵母 D の資化性に違いがみられ，酵母 B と酵母 D を同時に使用することで，ビール中の糖類を限りなくゼロに近づけられる可能が考えられた．また，日向夏果汁を添加した麦汁を使用した試験醸造において，既存の日向夏ビールと比較して，酵母 B，酵母 D のいずれを使用した場合でも，糖類を 1/10 以下まで減少することが確認された．しかし，アルコール度数が低く，既存製品同様に補糖することでアル

コール濃度を上げ，その上で糖類を減少させる必要があった．

表 3　酵素①③を使用したビールの糖分析結果

濃度(mg/L)

糖名	酵素①③酵母B	酵素①③酵母D
フルクトース	0	126
グルコース	0	124
スクロース	47	0
マルトース	60	0
マルトトリオース	109	0
合計	217	249

3－4　選抜した酵素 2 種類と酵母 2 種類を同時に使用した試験醸造

酵母の資化性の違いを利用し，酵母 B と酵母 D を同時に使用し，糖類ゼロを達成するため，酵母 B と酵母 D の比増殖速度から添加タイミングを検討したところ，麦汁中で必要な酵母数に達する時間は酵母 B が 12.6 時間，酵母 D が 9.5 時間必要なことが分かった．製造現場での作業性も考慮し，同時に添加することで試験醸造を行った．また，日向夏のの特徴を有し，糖類ゼロを達成するため，日向夏とホップの添加タイミングを検討したところ，全ての試験区において，既存製品より大きく糖類が減少し，試験区②以外は糖類が 90%以上減少した．特に試験区③においては，スクロース，マルトース，マルトトリオースがゼロであり，既存製品と比較して，糖類が 1/30 以下まで減少した．アルコール分は全ての試験区で 5%以上となり，糖類の大幅な減少と同時にアルコール度数 5%以上を達成することができた．

表 4　日向夏果汁とホップの添加タイミング

	日向夏果汁	ホップ
試験区①	酵母添加と同時	酵母添加の翌日
試験区②	酵母添加と同時	酵母添加の数日後
試験区③	酵母添加の数日後	酵母添加の翌日
試験区④	酵母添加の数日後	酵母添加の数日後

3－5　試験醸造ビールの揮発性成分と官能評価

ビールの香りに特徴的な 5 つの成分について比較検討を行った．華やかな香りを有するミルセンについては，発酵後期にホップを添加した②④において多く，ホップ由来で揮発せずにそのままビールに移行し，①③においては，発酵中に酵母による変換や吸着除去され，少なくなったと考えられた．日向夏果汁を発酵後期に添加した③④において，柑橘香を有するリモネンが多く官能評価の日向夏の香りを強く感じることと一致していた．

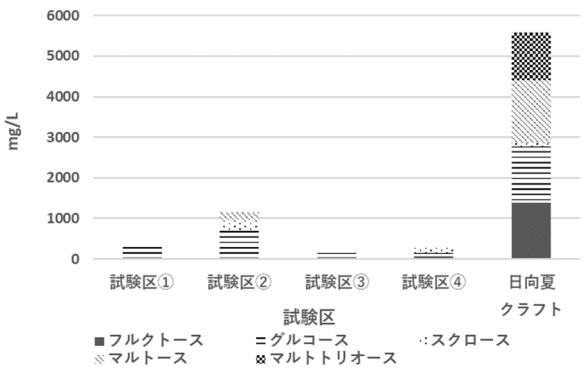


図 3　ビールの糖分

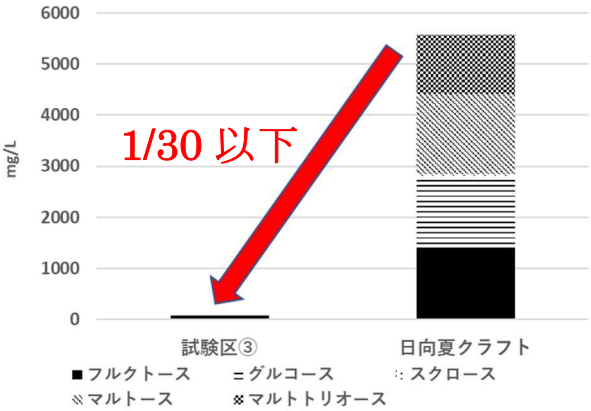


図 4　試験区③と既存製品の糖分

また，モノテルペンアルコールであるフローラルな香りを有するリナロールは，発酵初期にホップを添加した①③にのみ検出され，発酵時に酵母による代謝で生成したと考えられた．③のみ，シトロネロールが検出されたが，官能評価結果，日向夏の香りが強いことからリナロールと共に日向夏の特徴香に関与していると考えられた[2)]．ホップと日向夏果汁の添加時期を検討した結果，フローラルな香りを有するリナロールは，発酵開始初期にホップを添加した試験区のみにおいて確認され，爽やかな柑橘香を有するリモネンは発酵後期に日向夏果汁を添加することで多く含まれ，官能評価の日向夏の香りを強く

感じる官能評価と一致していた．以上の結果から，ホップを発酵初期に添加し，日向夏果汁を発酵後期に添加することで，日向夏の特徴を有し，官能評価の高い糖類ゼロのフルーツビールの製造が可能となった．

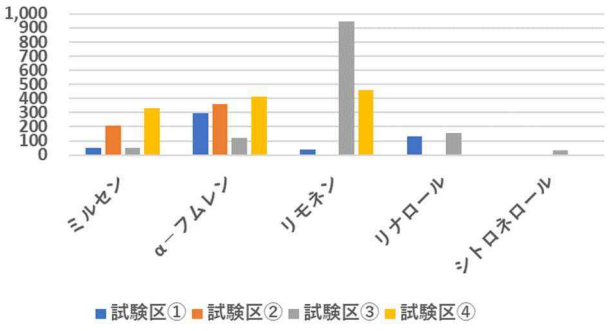


図 5　ビールの揮発性成分量

4　まとめ

酵素①，③の 2 種類を同時に加えて麦芽を糖化し，酵母 B，D の 2 種類の酵母で発酵させることで，ビール中の糖類を 0.0 g/100 ml 以下まで低減することが可能となり．糖類ゼロの基準（0.5 g /100 ml）を大幅にクリアした．さらに，ホップを発酵初期に添加し，日向夏果汁を発酵後期に添加することで，日向夏の特徴を有し，官能評価の高い糖類ゼロのフルーツビールの製造が可能となった．

表 5　ビールの官能評価結果

試験区	平均	特記事項
試験区①	2.0	日向夏香弱、炭酸少
試験区②	2.2	ホップ香強、辛い、日向夏香
試験区③	1.3	フルーティ、調和、フレッシュ、日向夏香
試験区④	2.0	ホップ香強、辛い、日向夏香、バランス良

5　参考文献

1）酒うつわ研究，きた産業㈱23／Ⅱ，15

2）Hyang-Sook Choi,Yusuke Kondo,Masayoshi Sswamura,*J.Agric.Food chem.*2001,49,2404-2408

再録

J. Brew. Soc. Japan. Vol. 117, No. 5, p. 355～363（2022）

研究報文

焼酎もろみの腐造に関与するクエン酸資化性乳酸菌 *Limosilactobacillus fermentum* の調査

高山清子[1]*・喜田珠光[1]・山本英樹[2]・水谷政美[2]・藤原絵美[3]・梶原康博[3]・髙下秀春[3]
（[1]宮崎県食品開発センター　現　宮崎県衛生環境研究所，[2]宮崎県食品開発センター，[3]三和酒類株式会社）

令和３年５月27日受理

Investigation of *Limosilactobacillus fermentum* assimilating citrate that cause putrefaction of *shochu* mash

Kiyoko TAKAYAMA[1]*, Tamami KIDA[1], Hideki YAMAMOTO[2], Masami MIZUTANI[2], Emi FUJIHARA[3], Yasuhiro KAJIWARA[3] and Hideharu TAKASHITA[3]

([1, 2]Miyazaki Prefectural Food Research and Development Center, 16500-2 Higashikaminaka, Sadowaracho, Miyazaki city, Miyazaki 880-0303, Japan, [3]Research Laboratory, Sanwa Shurui Co., Ltd., 2231-1, Yamamoto, Usa city, Oita, 879-0495, Japan)

Putrefaction of *shochu* mash often occurs in the case of a high temperature and low acidity of *koji*. We thus aimed for the early detection of putrefactive lactic acid bacteria (LAB). In this report, we investigated putrefactive LAB at *shochu* distilleries in Miyazaki Prefecture by PCR using a specific primer (mleP). The mleP genes used as indicators of putrefactive LAB were detected in one sample of the first mash and 33 samples of secondary mashes out of 110, with 32 samples being sweet potato mash. On researching pollution points in 4 distilleries, the mleP genes were detected in the transfer pumps and the mixer of the primary mash and sweet potato. For all *shochu* mashes, the mleP genes detected were confirmed in their normal states concerning organic acid and alcohol concentrations. Therefore, *L. fermentum* with the mleP genes does not affect fermentation when alcohol fermentation is normally performed by yeast, but these distilleries are always at risk of putrefaction.

Key words：焼酎もろみ（*shochu* mash），腐造（putrefaction），クエン酸（citric acid），乳酸菌（lactic acid bacteria）

緒　言

酒類の腐造に関与する乳酸菌については古くから研究が行われており，アルコールやホップ等により通常の細菌は生育できない条件下で生育する特性を持つことが知られている[1)]。ビールにおいては，鈴木ら[2)]によりビール混濁乳酸菌がホップ耐性を有すること，浅野ら[3)]によりビール混濁乳酸菌がビール馴化により小型化しフィルターを通過すること，さらには鈴木ら[4)]によりホップ耐性遺伝子を指標としたビール混濁性乳酸菌の検出について報告されている。清酒においては古くから多くの研究が行われており，火落菌はアルコール分20度以上でも生育することが知られている。後藤ら[5)]は低アルコール清酒から分離した乳酸菌種の耐アルコール性を調べ，火落ちの可能性について，百瀬[6)]は真性火落菌の生育がエタノールにより促進されることについて報告している。このように，酒類の腐造を引き起こす乳酸菌は生育環境に適応した特性を有

*責任著者（Corresponding author）：takayama-kiyoko@pref.miyazaki.lg.jp

Table 1 Samples collected from points easy to pollute at four *shochu* distilleries where mleP genes were detected.

Sample number	*Shochu* distilleries	Sampling location
1		Exit of the duct at a triangular box for *koji* making
2		1st - 1 day mash, yeast and water
3		1st - 3 days mash
4	P	2nd - 1 day mash
5		2nd - 2 days mash
6		Mash transfer pump
7		Inside of the mash transfer hose
8		Exit of the duct at a triangular box for *koji* making
9		1st - 1 day mash ①
10		1st - 1 day mash ②
11		Mash transfer pump ①
12	D	Inside of the mash transfer hose
13		2nd - 3 days mash ①
14		2nd - 3 days mash ②
15		Mash transfer pump ②
16		Mash transfer pump ③
17		2nd - 1 day mash
18		Inside of the mash transfer hose
19		Screw of the mixer
20	O	Exit of the mixer
21		Air shooter for taking out *koji*
22		1st - 1 day mash
23		1st - 2 days mash
24		Air shooter for taking out *koji*
25		1st - 2 days mash
26		2nd - 2 days mash
27	C	Mash transfer pump
28		Inside of the mash transfer hose
29		2nd - 9 days mash
30		Exit of the mixer

していると考えられている。焼酎においては，高宮[7]，田邊ら[8-12]，岩田ら[13]により焼酎もろみにおける生酸菌の分布，性質について，宮川ら[14]により芋焼酎もろみ中の乳酸菌が酒質に与える影響について報告されている。これまでに，焼酎もろみに生息する乳酸菌を調査し，焼酎二次もろみに広く分布していた *Lactiseibacillus paracasei*（旧学名：*Lactobacillus paracasei*）のクエン酸資化による酢酸及びジアセチル生成と焼酎への影響について報告した[15]。また，乳酸菌が原因と考えられる焼酎もろみの腐造が発生する場合があるが，腐造した焼酎もろみから分離した *Limosilactobacillus fermentum*（旧学名：*Lactobacillus fermentum*）（以下，*L. fermentum*）LT23 の特性について，耐クエン酸性が高く生育温度が比較的高い一方で，耐アルコール性は低いこと，グルコースとクエン酸を同時に資化し，資化されたクエン酸濃度と生成した酢酸濃度は直線的な相関関係があること，グルコースのみを炭素源とした場合に比べ，グルコースにクエン酸を添加した培地で増殖性が向上することを報告した[16]。

我々は，腐造性乳酸菌の早期検出を目的として，著者らは，クエン酸取込みに関与する mleP 遺伝子に着目したプライマーを作成し，PCR による腐造性乳酸菌の検出法を開発した[17]。この方法により，もろみの腐造を早期に発見し対処することが可能となった。今回，このプライマーを用いて，宮崎県内の焼酎製造場の焼酎もろみの性状等を調べ，腐造性乳酸菌が検出された焼酎製造場における腐造性乳酸菌の生息状況を調査検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

宮崎県内の焼酎製造場18場から一次もろみ18試料，二次もろみ92試料（芋75試料，麦12試料，ソバ4試料，米1試料）を採取した。試料の採取方法は，13場（A，B，C，D，E，F，G，H，I，J，K，L，R）では，有機酸及びアルコール分分析を行うためもろみを採取し，4場（N，O，P，Q）ではスワブを用いて試料を採取し，1場（M）ではもろみの採取と，同じ発酵日数で異なるタンクをスワブで採取した。また，腐造性乳酸菌の生息箇所は製造工程の各所にあるとされている[18]。そこで腐造性乳酸菌の生息状況を明らかにするため，焼酎もろみからmleP遺伝子が検出された製造場のうち4製造場（P，D，O，C）について，スワブを用いて一次および二次もろみの他，三角棚の送風ダクト出口，出麹用エアーシューター，もろみ輸送ポンプ本体及び輸送ホースの内面，一次もろみと蒸した甘藷の混合機のサンプリングを行った（Table 1）。

2. 腐造性乳酸菌の集積培養及びmleP遺伝子の検出

腐造性乳酸菌の培養には，クエン酸一水和物を0.3%，アジ化ナトリウムを0.001%，シクロヘキシミドを0.001%添加したMRS液体培地を用いた。焼酎もろみの試料は，培地10 mLに焼酎もろみを0.1 mL接種し，30℃で24時間集積培養した。スワブを用いた試料採取では，現地で同培地に接種し持ち帰った後，30℃で24時間集積培養を行った。また，汚染箇所調査は，同様にスワブを用いて拭き取り検査を行った。培養後は集菌し，Prepman Ultra Sample Preparation Reagent（Thermo Fisher SCIENTIFIC）を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAとの反応には，TaKaRa Taq HS Fast Detect（タカラバイオ株式会社）及び著者らが開発したプライマー[17]（mleP F primer 5'-CGC TAC CCA GTT ACC AAC CT-3'，mleP R primer 5'-AAC TTG ACG TCG CTG TGG TA-3'）を用いた。PCR条件は，94℃で5秒，65℃で5秒を1サイクルとして30サイクル行った。PCR産物は，マイクロチップ電気泳動装置（MultiNA，株式会社島津製作所），DNA-1000キットを用いて確認した。なお，ポジティブコントロールには，腐造焼酎もろみから分離した*L. fermentum* LT23から抽出したDNAを使用し，サイズマーカーには100 bp DNA Ladder（タカラバイオ株式会社）を使用した。

3. 焼酎もろみ中の乳酸菌数計測，単離株の同定

焼酎もろみ中の乳酸菌数は，アジ化ナトリウムを0.001%，シクロヘキシミドを0.001%添加したMRS培地（Difco）を用いて塗抹法で計測した。もろみから色，形状の異なるコロニーを採取し，MALDI-TOF MS（MALDI Biotyper，Bruker Daltonics）により菌種を同定した。

4. 有機酸，アルコール分分析

アルコール分は，焼酎もろみをろ紙（No.2，ADVANTEC）でろ過したろ液を簡易アルコール分析器（AL-2型アルコメイト，理研計器株式会社）で測定した。有機酸は，ろ液を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，株式会社島津製作所）により測定した。また，クエン酸一水和物を0.3%添加したMRS培地で，単離株を培養した培養液の有機酸分析を行い，クエン酸資化性を確認した。

結　果

1. 焼酎もろみからのmleP遺伝子の検出

焼酎もろみを集積培養後，増殖した菌体についてmleP遺伝子の有無を確認したところ，一次もろみ1試料，芋焼酎二次もろみ32試料及び米焼酎二次もろみ1試料でmleP遺伝子が検出された（Table 2，3）。

2. MALDI-TOF MSによる単離株の同定とmleP遺伝子の検出

焼酎もろみから単離した650株をMALDI-TOF MSで同定した結果，前報[15]と同様，*L. paracasei*が184株と最も多かった。*L. fermentum*は113株であり，そのうち100株がmleP遺伝子を保有していた（Table 4）。

3. 単離株のクエン酸資化性

焼酎製造場Lから分離しmleP遺伝子が検出されなかった*L. fermentum* 184L2は，培地中のクエン酸が残存しており，クエン酸資化性は認められなかった。一方，焼酎製造場Dから分離しmleP遺伝子が検出された*L. fermentum* 189L7は，培養液中のクエン酸

Table 2 Detection of the mleP genes from *shochu* mashes.

Shochu distilleries	Material	Stage of *shochu* mash	Days of *shochu* mash (number of samples)	mleP genes
A	Barley	Secondary	Before distillation (2)	−
B	Buckwheat	Secondary	1 day (1), 3 days (1), 5 days (1), 7 days (1)	−
	Barley	Secondary	9 days (1), 11 days (1), 13 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	2 day (1), 4 days (1), 6 days (1), 8 days (1)	−
C	Rice	Primary	5 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	8 days (1)	+
	Sweet potato	Secondary	Before distillation (1)	−
D	Rice	Primary	2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	3 days (2), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1), Before distillation (1)	+
	Sweet potato	Secondary	7 days (1)	−
E	Barley	Primary	4 days (1)	−
	Barley	Secondary	4 days (1)	−
F	Rice	Primary	3days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	3 days (1), 9 days (1)	−
G	Sweet potato	Secondary	2 days (1), 4 days (1), 6 days (1), 10 days (1), 12 days (1)	−
H	Sweet potato	Secondary	Before distillation (2)	−
	Sweet potato	Secondary	Before distillation (4)	+
I	Rice	Primary	3 days (1), 4 days (1), 5 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	2 days (1), 5 days (1)	+
	Sweet potato	Secondary	6 days (1), 7 days (1), 8 days (1)	−
J	Sweet potato	Secondary	10 days (2)	+
	Rice	Secondary	4 days (1)	+
	Barley	Secondary	6 days (2)	−
K	Sweet potato	Secondary	3 days (1), 8 days (1)	−
L	Rice	Primary	1 day (1), 2 days (1), 3 days (1), 5 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	1 day (1), 2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 7 days (1)	−
M	Sweet potato	Secondary	2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1), 7 days (1)	−
R	Barley	Secondary	5 days (1), 7 days (1), 9 days (1), 12 days (1)	−

+ : positive, − : negative

Table 3 Detection of the mleP genes from *shochu* mashes sampled with swabs.

Shochu distilleries	Material	Stage of *shochu* mash	Days of *shochu* mash (number of samples)	mleP genes
M	Sweet potato	Secondary	2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1), 7 days (1)	−
N	Rice	Primary	5 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	2 days (1)	+
	Sweet potato	Secondary	8 days (1)	−
O	Sweet potato	Secondary	1 day (2), 2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1), 7 days (1)	+
P	Rice	Primary	3 days (1)	+
	Sweet potato	Secondary	1 day (1), 2 days (1), 3 days (1), 4 days (1), 5 days (1), 6 days (1), 7 days (1), 8 days (1)	+
Q	Rice	Primary	6 days (1)	−
	Sweet potato	Secondary	1 day (1), 2 days (1), 3 days (1), 9 days (1)	−

+ : positive, − : negative

Table 4 Identification of isolates from *shochu* distilleries. 650 strains isolated from 110 mashes were identified by MALDI-TOF MS.

Species	Number of strains
Lacticaseibacillus paracasei	184
Lactiplantibacillus plantarum	175
Limosilactobacillus fermentum	113 (100)※
Levilactobacillus brevis	88
Lactobacillus satsumensis	31
Lactobacillus habinensis	16
Lactobacillus parabuchneri	10
Lactobacillus perolens	7
Lactobacillus nagelii	7
Leuconostoc mesenteroides	7
Lactobacillus hilgardii	5
Lactobacillus buchneri	4
Lactobacillus corniformis	2
Lactobacillus paraplantarum	1

※ Number of mleP genes-positive

を全て資化し，酢酸を生成した（Fig. 1）。mleP 遺伝子が検出された他の分離株についても同様のクエン酸資化性が確認された。

4. 焼酎もろみの有機酸，アルコール分

mleP 遺伝子が検出された焼酎もろみの分析結果を Table 5 に示す。いずれの製造場のもろみもクエン酸は残存し，乳酸及び酢酸の増加も見られず，アルコール分も十分に生成されており，異常は認められなかった。

5. 汚染箇所の調査

乳酸菌の生息状況を明らかにするため，mleP 遺伝子が検出された製造場のうち 4 製造場（P，D，O，C）について，スワブを用いて一次および二次もろみの他，三角棚の送風ダクト出口，出麹用エアーシューター，もろみ輸送ポンプ本体及びホースの内面，一次もろみと芋の混合機のサンプリングを行い，mleP 遺伝子検出プライマーを用いた PCR を行った（Fig. 2）。その結果，P 製造場においては，三角棚の送風ダクト出口（Fig. 2（a），Lane 2），酵母と仕込水が入った一次仕込時の甕（Fig. 2（a），Lane 3），もろみ輸送ポンプ本体（Fig. 2（a），Lane 7）とホースの内面（Fig. 2（a），Lane 8）からは mleP 遺伝子は検出されなかったが，一次もろみ 3 日目（Fig. 2（a），Lane 4），

Table 5 Components of *shochu* mashes for which mleP genes were positive.

Shochu distilleries	Material	Days of mash	pH	Ethanol (vol%)	Citric acid (mg/L)	Malic acid (mg/L)	Lactic acid (mg/L)	Acetic acid (mg/L)	LAB viable cells (CFU/mL)
C	Sweet potato	2nd-8 days	4.2	17.7	1700	530	270	370	<30
D	Sweet potato ①	2nd-3 days	4.0	13.0	2700	1100	96	310	3.8E+04
	Sweet potato ②	2nd-3 days	4.0	13.2	2800	1100	180	280	2.8E+04
	Sweet potato	2nd-5 days	4.1	13.9	2700	1100	210	360	5.2E+03
	Sweet potato	2nd-6 days	4.1	13.9	2700	1000	170	350	2.7E+03
	Sweet potato	Before distillation	4.1	12.4	3100	1100	370	250	5.8E+04
	Sweet potato	2nd-4 days	4.0	14.2	3200	1100	410	290	2.1E+04
H	Sweet potato ①	Before distillation	4.3	15.5	2100	630	330	400	3.0E+02
	Sweet potato ②	Before distillation	4.3	15.8	3100	280	310	400	1.7E+03
	Sweet potato ③	Before distillation	4.4	15.7	3200	260	230	420	7.0E+02
	Sweet potato ④	Before distillation	4.3	16.2	2900	290	320	450	4.0E+02
I	Sweet potato	2nd-2 days	4.0	13.8	2600	1200	220	140	6.3E+05
	Sweet potato	2nd-5 days	4.3	16.0	2800	1200	290	300	2.0E+04
J	Sweet potato ①	2nd-10 days	4.1	13.9	3100	590	280	190	4.0E+02
	Sweet potato ②	2nd-10 days	4.1	14.1	3300	630	290	230	4.0E+02
	rice	2nd-4 days	4.1	16.3	2500	300	270	240	2.0E+02

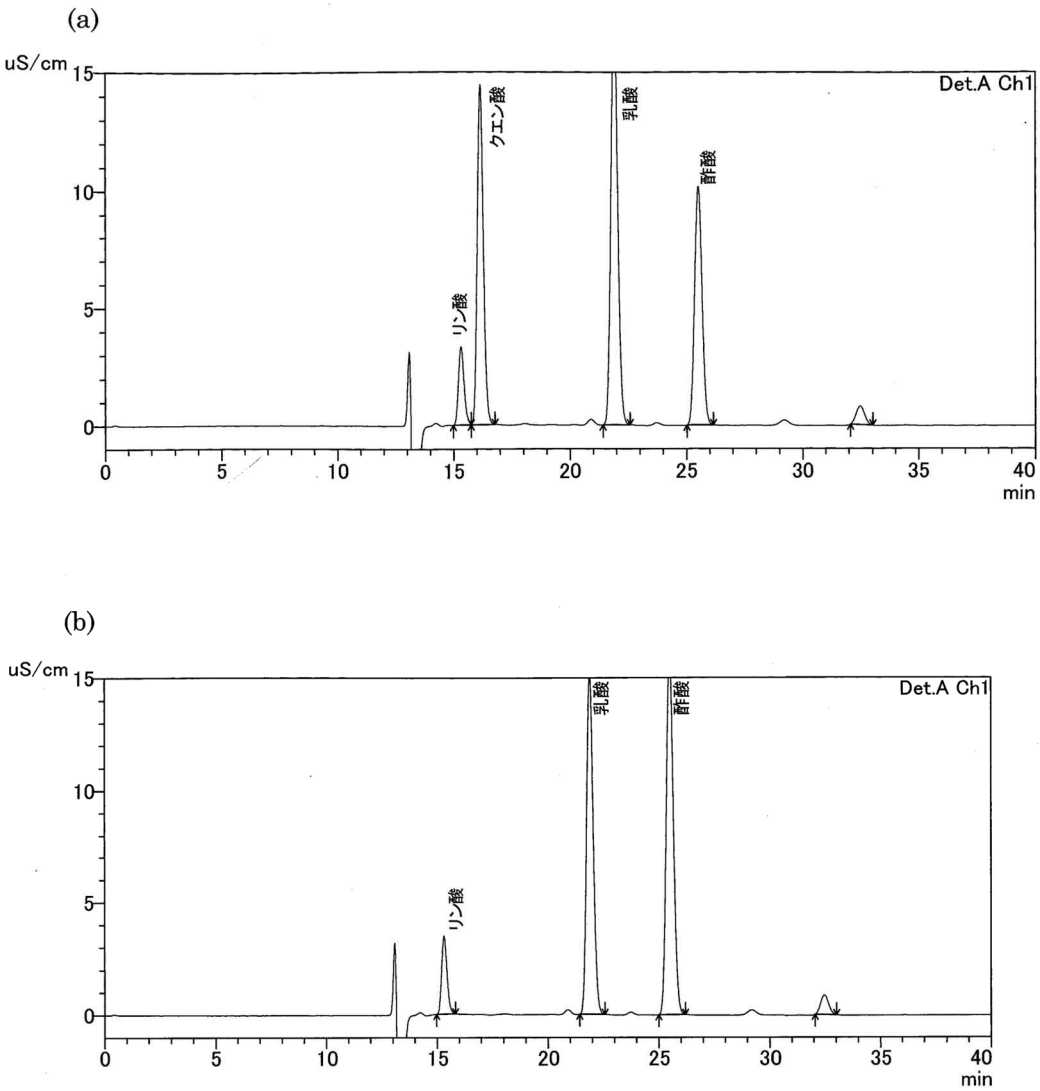
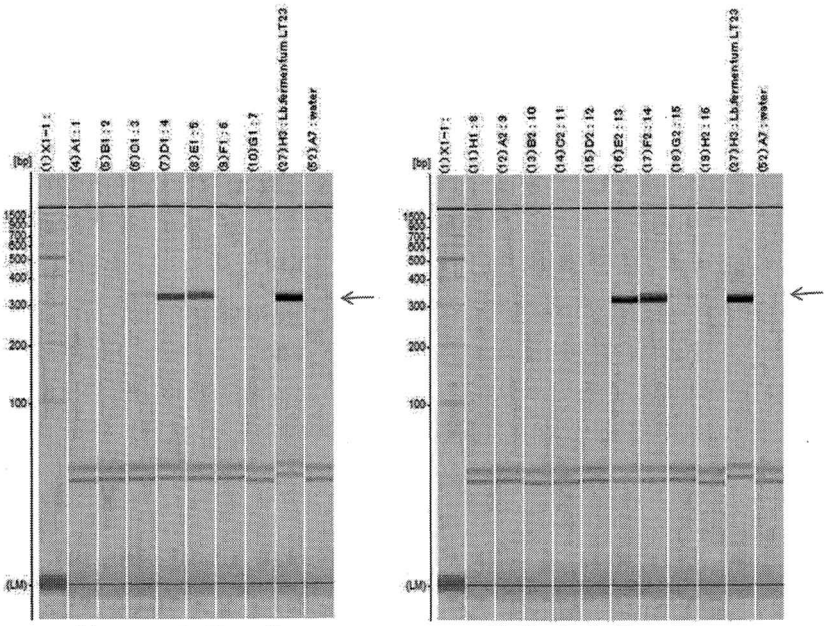


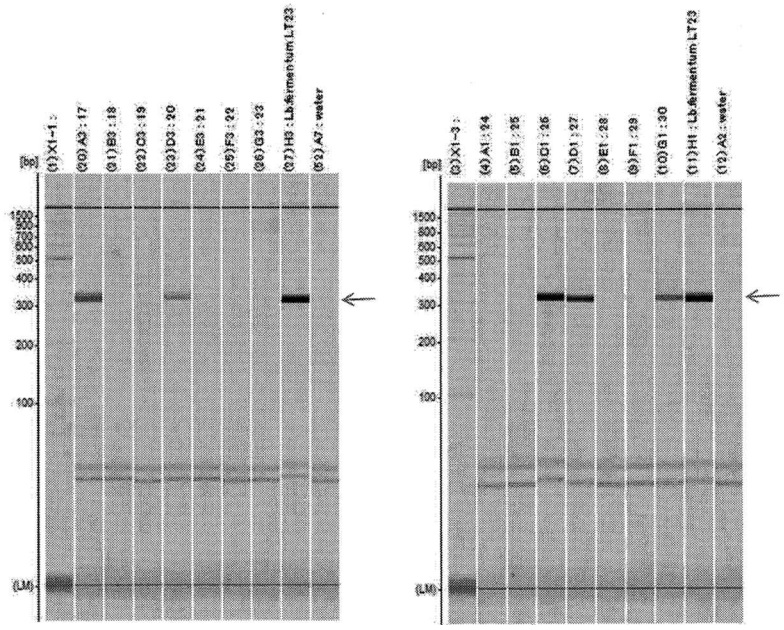
Fig. 1 Chromatograms of organic acid analysis after cultivation in MRS medium with 0.3% citric acid monohydrate.
(a) *L. fermentum* 184L2 which mleP genes were not detected.
(b) *L. fermentum* 189L7 which mleP genes were detected.
(Acetic acid was included in MRS broth as sodium acetate.)

二次もろみ1日目（Fig. 2（a），Lane 5），及び2日目（Fig. 2（a），Lane 6）からmleP遺伝子が検出された。D製造場においては三角棚の送風ダクト出口（Fig. 2（b），Lane 2），タンクの異なる一次もろみ1日目2試料（Fig. 2（b），Lane 3，Lane 4），もろみ輸送ポンプ①，③（Fig. 2（b），Lane 5，Lane 10），輸送ホースの内面（Fig. 2（b），Lane 6）からはmleP遺伝子は検出されなかったが，タンクの異なる二次もろみ3日目2試料（Fig. 2（b），Lane 7，Lane 8），もろみ輸送ポンプ②（Fig. 2（b），Lane 9）からmleP遺伝子が検出された。O製造場においては，もろみ輸送ホースの内面（Fig. 2（c），Lane 3），一次もろみと蒸した甘藷を混合する機械のスクリュー部（Fig. 2（c），Lane 4），出麹用エアーシューター（Fig. 2（c），Lane 6），一次もろみ1日目（Fig. 2（c），Lane 7），2日目（Fig. 2（c），Lane 8）からはmleP



(a) *Shochu* distillery "P"
Lanes from left
Lane 1 Ladder Marker (100 bp DNA Ladder)
Lane 2 sample 1, Lane 3 sample 2, Lane 4 sample 3, Lane 5 sample 4, Lane 6 sample 5, Lane 7 sample 6, Lane 8 sample 7, Lane 9 positive control, Lane 10 negative control

(b) *Shochu* distillery "D"
Lanes from left
Lane 1 Ladder Marker (100 bp DNA Ladder)
Lane 2 sample 8, Lane 3 sample 9, Lane 4 sample 10, Lane 5 sample 11, Lane 6 sample 12, Lane 7 sample 13, Lane 8 sample 14, Lane 9 sample 15, Lane 10 sample16, Lane 11 positive control, Lane 12 negative control



(c) *Shochu* distillery "O"
Lanes from left
Lane 1 Ladder Marker (100 bp DNA Ladder)
Lane 2 sample 17, Lane 3 sample 18, Lane 4 sample 19, Lane 5 sample 20, Lane 6 sample 21, Lane 7 sample 22, Lane 8 sample 23, Lane 9 positive control, Lane 10 negative control

(d) *Shochu* distillery "C"
Lanes from left
Lane 1 Ladder Marker (100 bp DNA Ladder)
Lane 2 sample 24, Lane 3 sample 25, Lane 4 sample 26, Lane 5 sample 27, Lane 6 sample 28, Lane 7 sample 29, Lane 8 sample 30, Lane 9 positive control, Lane 10 negative control

Fig. 2 Microchip electrophoresis of PCR products with the primers mleP F and mleP R.

遺伝子は検出されなかったが，二次もろみ1日目（Fig. 2（c），Lane 2），一次もろみと蒸した甘藷の混合機の出口（Fig. 2（c），Lane 5）からmleP遺伝子が検出された。C製造場においては，出麹用エアーシューター（Fig. 2（d），Lane 2），一次もろみ2日目（Fig. 2（d），Lane 3），もろみ輸送ホースの内面（Fig. 2（d），Lane 6），蒸留前の二次もろみ9日目（Fig. 2（d），Lane 7）からはmleP遺伝子は検出されなかったが，二次もろみ2日目（Fig. 2（d），Lane 4），もろみ輸送ポンプ（Fig. 2（d），Lane 5），一次もろみと蒸した甘藷の混合機の出口（Fig. 2（d），Lane 8）からmleP遺伝子が検出された。

考　察

我々は，前報[16]において異常発酵焼酎もろみから分離した腐造性乳酸菌 *L. fermentum* LT23のグルコースとクエン酸の同時代謝による増殖性の向上について報告した。今回，宮崎県内の焼酎もろみについて，クエン酸取り込みに関与するmleP遺伝子検出プライマーを用いて腐造性乳酸菌 *L. fermentum* の検出を試みたところ，焼酎二次もろみ33試料でmleP遺伝子が検出され，そのうち32試料は芋焼酎もろみであった。芋焼酎の二次もろみでは二次原料に用いる甘藷の割合が多いため，一次もろみのクエン酸の希釈率が大きくなり，他の穀類焼酎もろみに比べ酸度が低くなる。その結果，クエン酸を好む腐造性乳酸菌が生育しやすい環境になると考えられた。また，高下ら[17]のクエン酸取り込み機能を有すると推定されるもう一つの構造遺伝子citT遺伝子プライマーについては検出されなかった。

製造場における拭き取り検査を実施したところ，もろみの輸送に使用する輸送ポンプ（Fig. 2（b），Lane 9，Fig. 2（d），Lane 5），一次もろみと蒸した甘藷の混合機（Fig. 2（c），Lane 5，Fig. 2（d），Lane 8）でmleP遺伝子が検出された。実際にmleP遺伝子が検出された箇所では，水分が残存し，洗浄不足による蒸し芋の汚れが見られた。mleP遺伝子を有し，クエン酸を資化する *L. fermentum* は，焼酎の製造過程でクエン酸濃度が低下した輸送ポンプや一次もろみと蒸した甘藷の混合機で増殖し，焼酎二次もろみに持ち込まれると考えられる。一方，一次もろみ18試料中唯一mleP遺伝子が検出されたP製造場において，輸送ポンプからはmleP遺伝子非検出であったが全ての二次もろみでmleP遺伝子が検出されており，一次もろみから腐造性乳酸菌が持ち込まれたと考えられる。

mleP遺伝子が検出された焼酎もろみを分析したところ，乳酸及び酢酸濃度の増加は見られずクエン酸濃度及びアルコール分も正常であり異常は認められなかった。しかしながら，mleP遺伝子を有する乳酸菌が検出された製造場においては，麹酸度が低い場合や酵母によるアルコール生成が遅れる場合，もろみが35℃以上の高温になる場合では常に腐造のリスクがあると考えられる。

要　約

宮崎県内の焼酎製造場18場から焼酎もろみ110試料を採取した。腐造性乳酸菌の指標とされるmleP遺伝子は，焼酎一次もろみ1試料及び二次もろみ33試料で検出され，そのうち32試料は芋焼酎もろみであった。mleP遺伝子が検出された焼酎製造場において汚染状況を調査したところ，もろみ輸送ポンプや一次もろみと蒸した甘藷の混合機でmleP遺伝子が検出された。mleP遺伝子が検出された菌株はクエン酸資化性が確認され，培地中のクエン酸を全て資化し酢酸を生成した。なお，mleP遺伝子が検出された焼酎もろみのアルコール分，有機酸に異常は認められなかったが，これらの製造場では常に腐造のリスクがあると考えられる。

謝　辞

本研究を行うにあたり，試料を提供いただいた宮崎県内の焼酎製造場の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

1）日本乳酸菌学会編：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），423-431（2010）
2）鈴木康司，飯島和丸，坂本幹太，佐見学，山下博：醸協，**101**，94-103（2006）
3）浅野静，鈴木康司：醸協，**103**，594-600（2008）
4）鈴木康司，飯島和丸，浅野静，栗山英俊，北川泰：醸協，**102**，314-322（2007）
5）後藤（山本）奈美，角田朝子，福田整，高宮義治，佐藤俊一，山岡洋，岩下和裕，岸伸彦，戸塚昭，梅田紀彦：醸協，**90**，796-799（1995）

6) 百瀬洋夫：醸協，**70**，305-308（1975）
7) 高宮義治：醸協，**77**，907-910（1982）
8) 田邊幾之助，坂田太吉，迫間敬子：鹿大農学術報告，**31**，47-52（1981）
9) 田邊幾之助，音地龍夫，二石真智子，迫間敬子，志々目義紀：鹿大農学術報告，**32**，69-77（1982）
10) 田邊幾之助，二石真智子，迫間敬子，有川順子：鹿大農学術報告，**33**，47-52（1983）
11) 田邊幾之助，二石大介，金丸芳：鹿大農学術報告，**34**，45-57（1984）
12) 田邊幾之助，金丸芳：鹿大農学術報告，**36**，99-109（1986）
13) 岩田博，中嶋則行，水野昭博，高原康生，黒須猛行，里見弘司，石井徹，伊藤康，菅間誠之助：醸協，**79**，51-55（1984）
14) 宮川博士，鈴木恵利香，小堺敏揮，河野邦晃，岩井謙一，高瀬良和：醸協，**111**，405-411（2016）
15) 高山清子，竹下淳子，水谷政美，山本英樹，越智洋，工藤哲三：醸協，**103**，393-400（2008）
16) 高山清子，水谷政美，山田和史，山本英樹，越智洋，工藤哲三：醸協，**107**，861-867（2012）
17) 印刷中
18) 公益財団法人日本醸造協会編，本格焼酎製造技術 三版，229-235（2014）

日本の
ひなた
宮崎県

令和４年度・第67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５年６月発行

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