

# 群馬県立産業技術センター 研究報告

平成29年度

Reports of

Gunma Industrial Technology Center

2017

群馬県立産業技術センター



## 目 次

### 次世代産業創出研究

次世代無線通信センサネットワークを活用した IoT 支援に関する研究 (第2報) . . . . .	1
石黒聡、町田晃平、細谷肇	
繊維状活性炭担持 Ni 試料の水素吸着能に関する検討 . . . . .	5
恩田紘樹、熊澤直人、塚本さゆり、 徳田敬二、鈴木崇	
輸出用に適した群馬清酒酵母の育種に関する研究 (第2報) . . . . .	10
渡部貴志、佐藤勝也、林秀謙、 増淵隆	

### 試験分析高度化研究

バラ積みピッキングロボット用の深層強化学習手法の開発 (第1報) . . . . .	15
町田晃平、石黒聡、細谷肇	
広域大段差対応白色干渉計によるステッチング測定条件の最適化 . . . . .	19
増田直也	
共振点予測技術の構築 . . . . .	25
青柳大志	
シリコーンゴムによる積層造形物の造形特性に関する研究 . . . . .	29
狩野幹大、岩沢知幸	
摩擦摩耗試験における摩擦係数測定精度の向上に関わる取組 . . . . .	33
小和瀬登、荻野直彦、岩沢知幸	
引張試験における画像処理を用いたひずみ測定手法の開発 . . . . .	38
新井宏章、荻野直彦、岩沢知幸、 鏑木哲志	
高分子フィルムのガスバリア性評価 . . . . .	43
牛木龍二、恩田紘樹	
味覚センサーを用いた賞味期限設定方法の検討 . . . . .	46
石田一成、櫛田麻希、木村紀久	

酵母拡大培養用の培地の最適化に関する研究	50
渡部貴志、榎田麻希、増淵隆	

サーマルサイクラーを利用した酵母の簡易識別法の検討	54
榎田麻希、渡部貴志、増淵隆	

その他

誘電泳動法を用いた iPS 再生医療のための 細胞分離装置の開発とその商品化	59
北島信義、田島創、箱田優、 中山雅史	

# 次世代産業創出研究

# 次世代無線通信センサネットワークを活用した IoT 支援に関する研究 (第2報)

石黒 聡・町田晃平・細谷 肇\*

Study on IoT support that utilized a next-generation wireless communication sensor network  
(2<sup>nd</sup> Report)

Satoshi ISHIGURO, Kouhei MACHIDA, Hajime HOSOYA

中小企業への IoT 支援をするために、次世代無線通信センサネットワークを活用したシステム構築の基礎的な研究を行った。子機で取得した温湿度センサのデータを親機を介して LAN 上のデータベースに保存し、グラフによる可視化ができることを確認した。

キーワード：IoT、次世代無線通信、センサネットワーク

A basic study of the systems construction that utilized a next-generation wireless communication sensor network was done to support IoT in the medium and small-sized business. The data acquired by the temperature-humidity sensor on the child device could be saved in the database on the LAN through the parent device. Then, it could be visualized by graph.

Keywords : Internet of Things, Next-generation wireless communication system, Sensor network

## 1 まえがき

最近、生産現場での IoT 活用の必要性が叫ばれているが、実際に活用しているのは大企業が多く、中小企業ではほとんど普及が進んでいないのが現状である。理由は、IoT の意味合いや導入効果が不明確であるため投資ができないことである。また、IoT はインターネットにつながっていることが重要であるが、生産現場では IT 化も十分ではなく、LAN などのネットワーク自体が整備されていない状況である。

今後センターに対して中小企業からの IoT 支援の要望が高くなることが予想されるため、IoT に関する技術的なノウハウを蓄積し、情報提供できるようになることが必要である。

昨年度は、センサノードと IoT ゲートウェイ間の通信に次世代無線通信を使用して、温湿度センサ、測距センサのデータを送受信し、クラウド上のサービスを利用して、温湿度データのグラフによる可視化およびメッセージの発信をすることができた。

今年度は、中小企業から要望があった LAN 上のデータベースにデータを保存し可視化する技術について基礎的な研究を行った。

## 2 研究方法

### 2.1 システムの概要

本研究では、次世代無線通信ネットワークを利用して、温湿度センサで室内環境の状態をモニタリングし、そのデータを LAN 上のデータベースに保存して、社内で現場の状態を確認できるようなシステムを構築した。

### 2.2 システムの構成

システム構成を図 1 に示す。

本システムは、①温湿度センサを取り付け、情報を収集する「子機」、②子機から温湿度データを受信し、PC と接続する「親機」、③親機からシリアル通信で温湿度データを受信し、LAN 上のデータベースに保存する「PC」、④温湿度データを保存する「データベース (SQL Server)」で構成される。また、子機と親機の

通信には、次世代無線通信と呼ばれている920MHz帯無線モジュールを使用して通信する。920MHz帯無線通信は、Wi-Fiと比較して、干渉に強い、通信距離が長い、消費電力が低いなどの特徴がある。

## 2. 3 プログラム開発

### 2. 3. 1 親機・子機の制御プログラム

親機と子機の構成を表1に示す。なお、子機には、温湿度センサが付いている。親機と子機に実装している無線モジュールには、「送信モジュールID」という16bitの識別番号が個々に割り当てられていて、親機の受信IDに子機の送信モジュールIDを事前に登録しておくことで無線通信を行うことができる。また、無線モジュールには、接点入力モード、接点出力モード、データモード、AD入力モードの4種類の動作モードがあるが、今回は、外部インターフェイスからコマンドを用いて、データ送信や各種設定が可能な「データモード」を選択している。データモードは、可変長データ送信コマンド(TXDA)を用いると、1~64バイトの可

変長データを送信することができる。

親機と子機の制御プログラムは、図2の制御フローをもとに、Arduino用開発ツールを使用してC言語で開発した。開発ツールの画面を図3に示す。

子機のプログラムでは、温湿度センサから、温度、湿度を測定し、次のようなフォーマットで親機にデータを送信している。

<送信フォーマット>

例) 温度 20.36℃、湿度 38.48%の場合

TXDA 20363848

また、親機で受信するデータは次のようなフォーマットになっている。

<受信フォーマット>

例) 温度 20.36℃、湿度 38.48%の場合

00,1AEA,C2:20,36,38,48

「00」はノード番号、「1AEA」は子機の送信モジュールID、「C2」はデータを受信したときの受信強度(RSSI値)で、コロン(:)以降の2文字のカンマ区切りの数字が、温度と湿度の

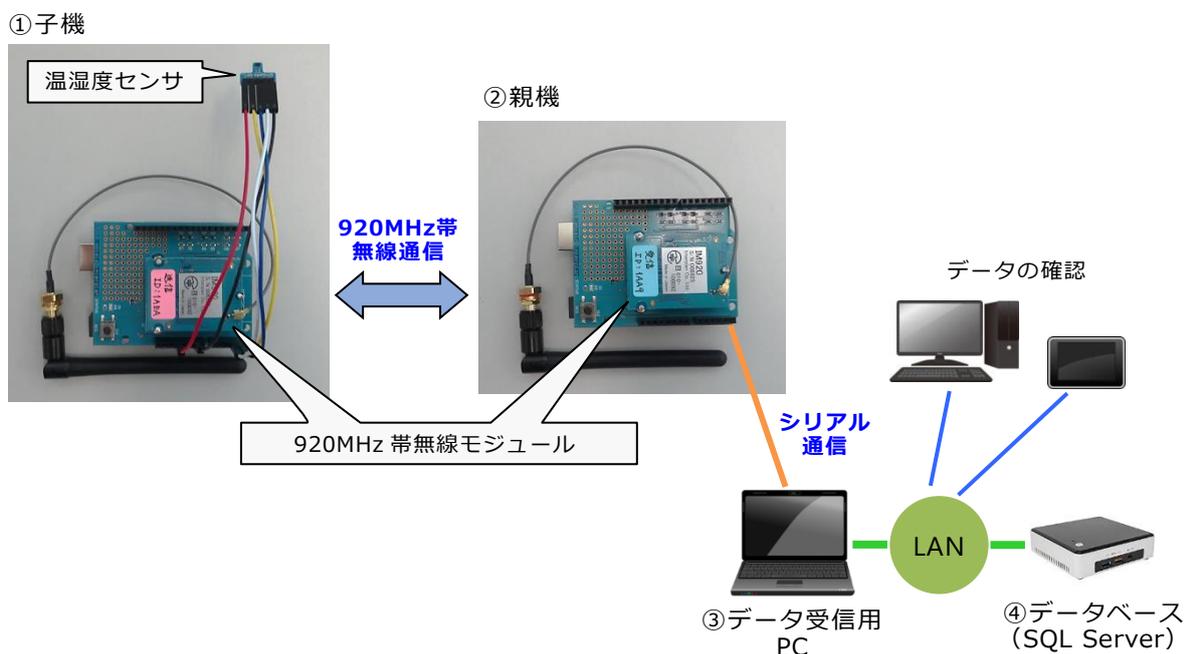


図1 無線通信ネットワークのシステム構成

表1 親機・子機の構成

マイコンボード	Arduino UNO R3	秋月電子通商(株)
IM無線シールド	IM315-SHLD-RX-V2	インタープラン(株)
920MHz帯無線モジュール	IM920XS	インタープラン(株)
温湿度センサ	HDC1000	秋月電子通商(株)

データである。

### 2.3.2 シリアル通信およびデータベースに保存するPCのプログラム

親機と PC はシリアル通信で接続されており、また PC は LAN に接続されている。親機からシリアル通信でデータを受信し、LAN 上のデータベースにデータを保存するプログラムを Visual Basic 言語で開発した。プログラムの実行画面を図 4 に、データベースの構成を図 5 に示す。図 4 の上部のテキストボックスに親機からシリアル通信で受信したデータを表示し、下部の表にデータベースに保存されているデータを表示している。

受信データの温度と湿度のデータは、2 文字ごとにカンマ区切りになっているため、温度と湿度の数値に変換して、データベースに保存するようにした。

### 2.3.3 データベースのデータをグラフ化するプログラム

LAN 上のデータベースに保存されているデータをグラフ化するプログラムを Visual Basic 言語で開発した。プログラムの実行画面を図 6 に示す。データベースには、日時、温度、湿度のデータが保存されているため、データの間隔により表示する範囲を変更できるようにしている。

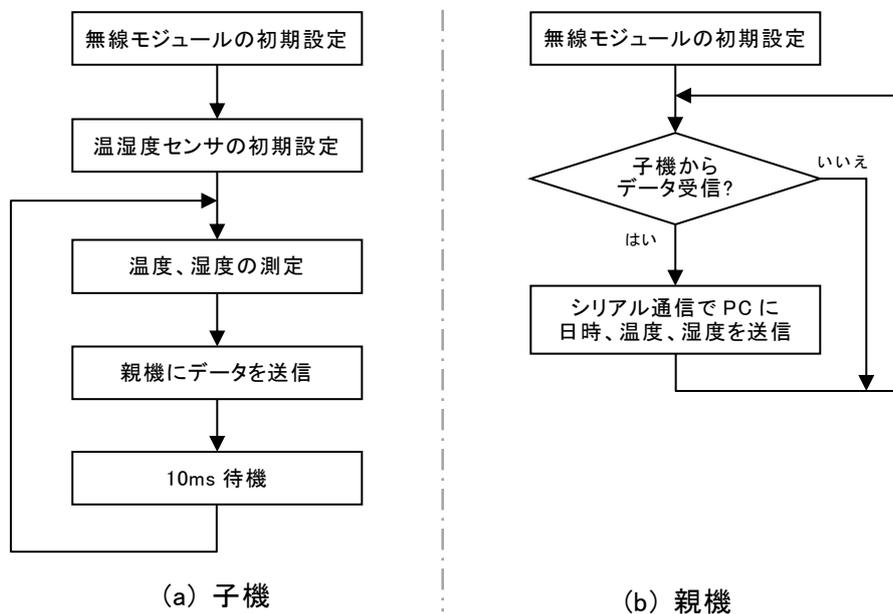


図 2 制御プログラムの動作フロー

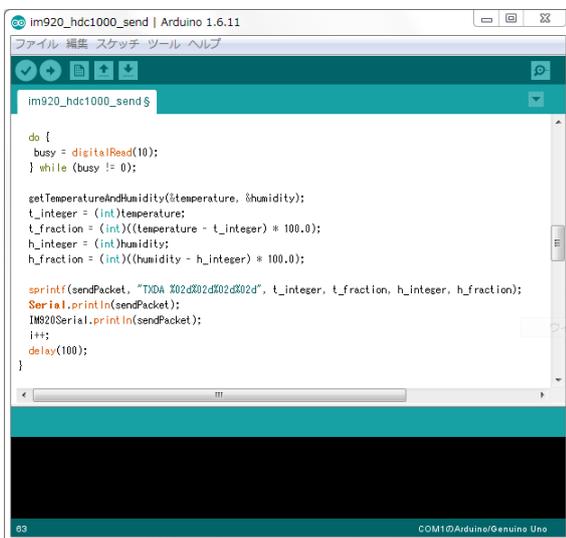


図 3 開発ツール

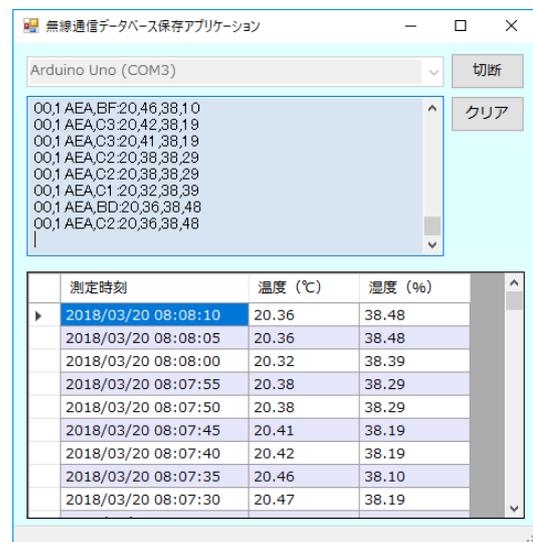


図 4 シリアル通信プログラムの実行画面

列名	データ型	NULL を許容
id	int	<input type="checkbox"/>
mdate	datetime	<input type="checkbox"/>
temperature	float	<input type="checkbox"/>
humidity	float	<input type="checkbox"/>

(a) テーブルの構成

id	mdate	temperature	humidity
1	2018-03-20 07:43:53.000	18.6299991607666	38.88999938964838
2	2018-03-20 07:43:53.000	18.690000534057617	38.979999542236328
3	2018-03-20 07:43:58.000	18.690000534057617	39.169998168945312
4	2018-03-20 07:44:03.000	18.649999618530273	39.080001831054688
5	2018-03-20 07:44:08.000	18.6299991607666	39.080001831054688
6	2018-03-20 07:44:13.000	18.659999847412109	39.169998168945312
7	2018-03-20 07:44:18.000	18.659999847412109	39.169998168945312
8	2018-03-20 07:44:23.000	18.700000762939453	39.270000457763672
9	2018-03-20 07:44:28.000	18.690000534057617	39.270000457763672
10	2018-03-20 07:44:33.000	18.670000076293945	39.270000457763672

(b) 保存データ

図5 データベースの構成

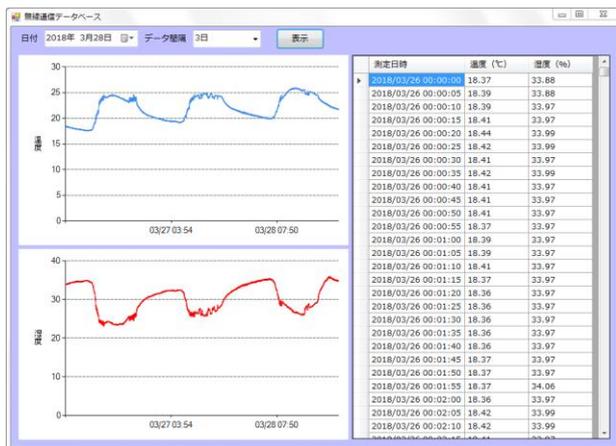


図6 温度・湿度のグラフ化

### 3 研究結果

子機で温度、湿度を測定し、920MHz 帯の無線通信を使用して親機にデータの送受信をして、PCで親機からシリアル通信で受信したデータをデータベースに保存することができた。データベースにデータを保存し、大量のデータを蓄積することで、いろいろな見方のグラフを表示することが可能になる。今回のグラフ化する画面は、通常は図6のように温度と湿度の経時グラフを表示するが、データ間隔を7日にした場合は、図7のように各日付の温度と湿度の最大値、最小値、平均値をグラフ化する

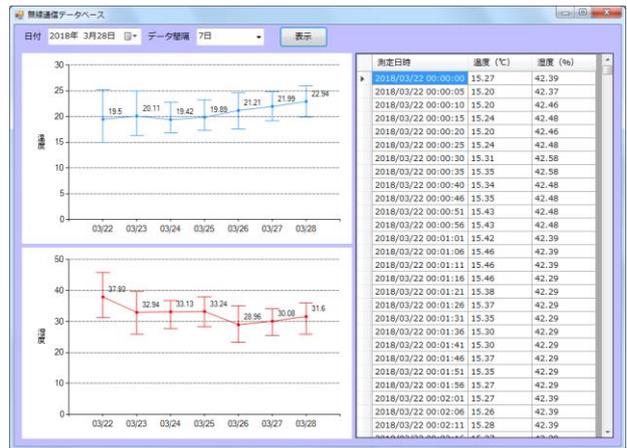


図7 最大値、最小値、平均値のグラフ化  
ようにした。

### 4 まとめ

次世代無線通信センサネットワークを利用して、LAN上で室内環境が確認できるシステムを構築する研究を行った。本研究により、次世代無線通信ネットワークを利用して、データをデータベースに保存し、LAN上でデータのグラフによる可視化ができるようになった。

さらに、今年度このシステム構成を基にして、企業と共同研究を行い、技術移転をすることもできた。

### 文献

- 1) 「920MHz 特定小電力無線モジュール ハードウェア取扱説明書」, インタープラン株式会社
- 2) 「920MHz 特定小電力無線モジュール ソフトウェア取扱説明書」, インタープラン株式会社

## 繊維状活性炭担持 Ni 試料の水素吸着能に関する検討

恩田紘樹・熊澤直人\*・塚本さゆり・徳田敬二\*・鈴木 崇\*\*

Investigation of hydrogen adsorption capacity regarding  
nickel metals supported on fabric active carbon  
Koki ONDA, Naoto KUMAZAWA, Sayuri TSUKAMOTO,  
Keiji TOKUDA and Takashi SUZUKI

繊維状活性炭(FAC)に Ni を 10wt.%となるように担持した試料(以下、Ni/FAC)の低温(-196 °C)および高温(50 °C)における水素吸着量を評価した。その結果、Ni/FAC の低温における吸着水素量および高温における吸着水素量は 3.27mmol/g および 0.30mmol/g だった。また、Ni/FAC に Cu を添加したところ、化学吸着した水素の吸着量はほとんど変化させずに脱離温度が低下し、1wt.%添加した場合で 96.2 °C だった。このように柔軟で通気性のある繊維状活性炭と組み合わせることにより、水素吸着材料のフレキシビリティを高め、水素貯蔵設備のコンパクト化が期待できる。

キーワード：水素、物理吸着、化学吸着、ニッケル、銅、活性炭

Adsorption amount of hydrogen on Ni supported on fabric active carbon(Ni/FAC) was evaluated at low temperature around -196 °C and at high temperature around 50 °C. The adsorption amount of hydrogen on the Ni/FAC specimen at low and high temperature was 3.27mmol/g and 0.30mmol/g, respectively. In addition, when temperature programmed desorption(TPD) of hydrogen was performed on 1wt.% of Cu loaded on Ni/FAC specimen, desorption peak temperature of chemisorbed hydrogen was 13.7 °C lower than that on Ni/FAC specimen. Finally, it would be expected that hydrogen adsorbent using flexible fabric active carbon was realized for miniaturized hydrogen storage facility.

Keywords: hydrogen, physisorption, chemisorption, nickel, copper,  
fabric active carbon

### 1 はじめに

水素は燃焼時に水のみを生成し、化石燃料のように二酸化炭素を排出しないことからクリーン燃料ガスとして着目<sup>1)</sup>され、エネファーム<sup>2)</sup>や燃料電池車<sup>3)</sup>のように水素を燃料として利用する燃料電池の実用化が進んでいる。また、水素ステーションなどの社会インフラの整備も進んでおり、今後ますます水素の需要は高まると予想されている。水素の製造技術や輸送技術は大手石油会社やガス会社を中心に既にほぼ確立さ

れている<sup>4)</sup>。しかし、水素は現行燃料(天然ガス、ガソリン、軽油等)と比較して体積エネルギー密度が低く、貯蔵効率が低いという課題がある。このため、水素吸着材を用いることで、より安全かつコンパクトな水素貯蔵を実現できる可能性がある。また水素吸着材には、水素を多く吸着できるだけでなく、容易に水素を脱離できることが求められるが、これまでに我々は、水素の化学吸着能に優れた Ni を高比表面積 SiO<sub>2</sub> に担持することにより、物理吸着だけでなく、Ni への化学吸着により水素を

貯蔵できる可能性を示唆し、さらに、Cu を添加することで Ni/SiO<sub>2</sub> に対する化学吸着水素の脱離ピーク温度を低減できる可能性を示唆した<sup>5-6)</sup>。このため、上記の金属と柔軟で通気性のある繊維状活性炭(FAC)を組み合わせることで水素吸着材のフレキシビリティを高めることができれば水素貯蔵設備の設計自由度向上も期待できる。

そこで本研究では、FAC 担持 Ni 試料を調製し、その水素吸着能について評価した。さらにその後、Cu 添加による脱離ピーク温度の低減について検証したので報告する。

## 2 実験

### 2. 1 FAC 担持 Ni 試料の調製

FAC(活性炭フィルター、柴田科学製)に、仕上りの試料重量基準で所定の Ni 担持量となるように硝酸ニッケル 6 水和物 (Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 試薬特級、和光純薬製) を 2wt.%クエン酸水溶液に溶解し、FAC 飽和吸水量の約 1.2 倍容の硝酸ニッケル-クエン酸水溶液を調製した。なお、含浸液にクエン酸を添加したのは、クエン酸イオンと金属イオンと繊維状活性炭表面で競争吸着させ、金属の細孔内への担持を促進するためである。この水溶液に FAC を含浸し、1 時間静置した。ロータリーエバポレーターに移し、50 °C に加温しながらアスピレーターで減圧乾燥後、石英製炉心管に移し、横型管状電気炉で窒素を約 200ml/min で通気しながら 500°C で 2 時間焼成し、FAC 担持 Ni 試料(Ni/FAC)の前駆体を得た。FAC 担持 Cu-Ni 試料(Cu-Ni/FAC)については、所定量の硝酸銅三水和物(Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O、試薬特級、和光純薬製)を試料重量基準で所定の Cu が含有されるように添加し、Ni/FAC と同様の手順で調製した。このようにして Cu-Ni/FAC の前駆体を得た。

### 2. 2 比表面積測定

試料の比表面積測定には高速比表面積測定装置 (AUTOSORB-1、カンタクローム製)を用い、吸着ガスを窒素として BET3 点法<sup>7)</sup>により測定した。

### 2. 3 水素昇温脱離 (H<sub>2</sub>-TPD)

触媒物性試験装置(BEL-CAT、日本ベル製)を用い、水素を流量 50ml/min で流通し

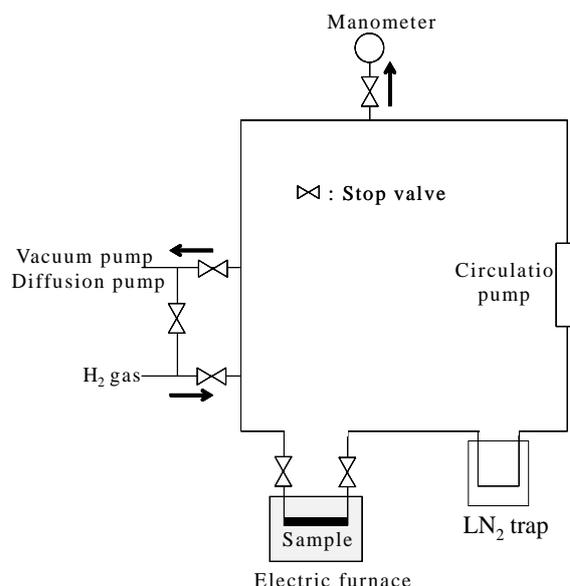


図 1 閉鎖循環系反応装置の模式図

ながら 350°C で 1 時間、試料を水素還元した後、50°C でアルゴンと水素の混合ガス(アルゴン/水素=7/3)を流量 50ml/min で流通しながら水素を飽和吸着させた。その後、アルゴンを流量 50ml/min で流通しながら 10°C/min で 350°C まで昇温し、試料からの水素脱離温度を測定した。

### 2. 4 活性化処理

Ni/FAC あるいは Cu-Ni/FAC の前駆体を、図 1 に示す体積既知の閉鎖循環系装置の固定床に 0.5g 設置し、400°C で 1 時間真空加熱排気した。閉鎖循環系装置内の圧力が 250Torr(33.3kPa)に到るまで水素を導入した。また、トラップを液体窒素で冷却して還元時に生成する水を除去し、400°C で 1 時間還元した後、固定床の温度を 400°C に保持しながら真空排気した。

### 2. 5 水素吸着量測定

試料の活性化処理後、固定床温度を 350 °C に保持しながら閉鎖循環系装置内の圧力が 380Torr(50.5kPa)に到るまで水素を導入した。その後、固定床温度を 50°C まで降温し、その際の系内圧力の低下量に基づいて 50°C 時点における系内の水素減少量を算出した。この水素減少量から、固定床に試料を設置せずに同様の操作を行った場合の系内における水素減少量を差し引き、これを高温 (50°C) 時の水素吸着量 (高温吸着量) とした。さらに、固定床を液体窒素に 1 時間浸して 50°C から -196°C にまで

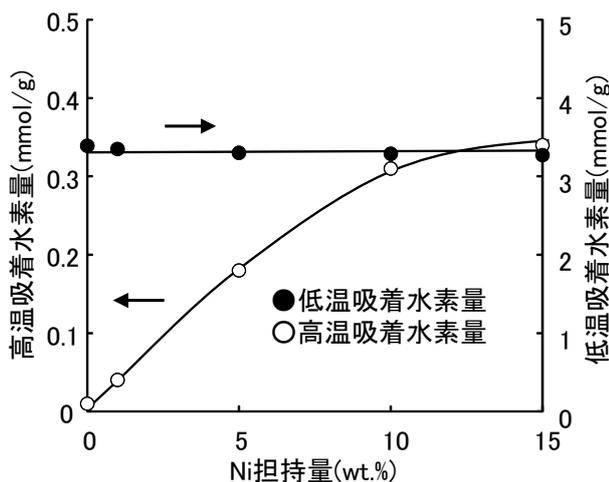


図2 FAC 担持 Ni 試料の水素吸着能

降温した際の系内圧力の低下量に基づき、 $-196^{\circ}\text{C}$ 時点における系内の水素減少量を算出した。この水素減少量から、固定床に試料を設置せずに同様の操作を行った場合の系内水素減少量を差し引き、これを低温 ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) 時の水素吸着量 (低温吸着量) とした。

### 3 結果および考察

#### 3. 1 FAC 担持 Ni 試料の水素吸着量

図2に、種々のFAC担持Ni試料およびFAC1g当たりの低温吸着量および高温吸着量を示す。Ni担持量が0、1、5、10および15wt.%のNi/FAC (以下、それぞれFAC、Ni(1)/FAC、Ni(5)/FAC、Ni(10)/FACおよびNi(15)/FACと記す) では低温吸着水素量はそれぞれ3.43、3.32、3.30、3.29および3.27mmol/gであり、また、高温吸着水素量はそれぞれ0.02、0.04、0.18、0.31および0.34mmol/gだった。なお、FAC、Ni(1)/FAC、Ni(5)/FAC、Ni(10)/FACおよびNi(15)/FACの比表面積はそれぞれ1038、1031、1029、1030および1026 $\text{m}^2/\text{g}$ だった。

FAC担持Ni試料の低温吸着水素量はNi担持量によらず大きな変化は見られなかった。またNi担持量の違いによる比表面積変化もほとんど見られなかった。これらのことから、低温吸着水素は主に吸着量が試料の比表面積に依存する物理吸着水素であると考えられた。

これに対し、高温吸着水素量はNi担持量

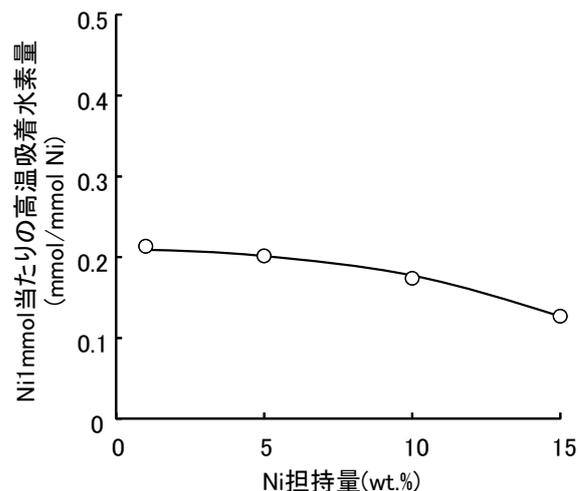


図3 Ni/FACのNi1mmol 当たりの高温吸着水素量

とともに増加した。このことから高温吸着水素は主にNiへの化学吸着水素であると考えられた。このように、FACにNiを担持することで物理吸着だけでなく、化学吸着による水素貯蔵も可能なことが示唆された。

一方、図3に示すように、Ni(1)/FAC、Ni(5)/FAC、Ni(10)/FACおよびNi(15)/FACにおいて、Ni1mmol当たりの高温吸着量はそれぞれ0.21、0.20、0.17および0.13mmolだった。Ni担持量が多くなるほどNi1mmol当たりの高温吸着量の減少は顕著だった。これについてはNi担持量の増加とともにNiの分散性が低下したためと推測された。

#### 3. 2 FAC 担持 Cu-Ni 試料の水素吸着量

水素吸着剤には吸着水素を容易に脱離できることが好ましい。そこで化学吸着水素の吸着力を低減し、化学吸着水素の脱離を容易にするため、Niよりも電気陰性度の大きいCuを0.25、0.5、0.75および1.0wt.%となるようにNi(10)/FACに添加したFAC担持Cu-Ni試料を調製し、これらをそれぞれCu(0.25)-Ni(10)/FAC、Cu(0.5)-Ni(10)/FAC、Cu(0.75)-Ni(10)/FACおよびCu(1.0)-Ni(10)/FACとした。

図4に示すように、Cu(0.25)-Ni(10)/FAC、Cu(0.5)-Ni(10)/FAC、Cu(0.75)-Ni(10)/FACおよびCu(1.0)-Ni(10)/FAC1g当たりの低温吸着水素量はそれぞれ3.27、3.26、3.28および3.25mmol/gであり、また高温吸着水素量はそれぞれ0.28、0.26、0.25および0.24

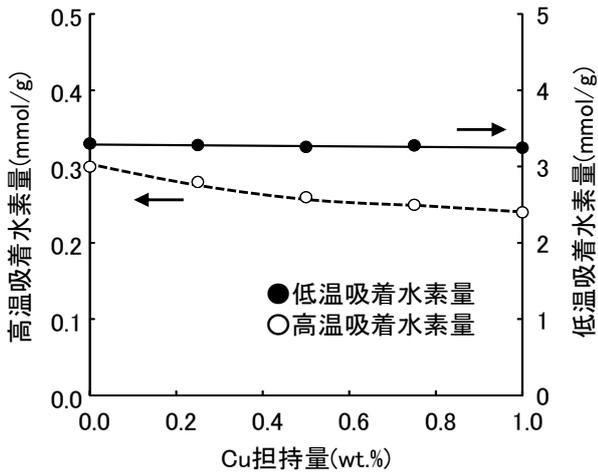


図4 FAC担持Cu-Ni試料の水素吸着量

mmol/g だった。

Cu添加量によらずFAC担持Cu-Ni試料の低温吸着水素量に違いはほとんど見られなかったのに対し、Cu(0.25)-Ni(10)/FAC、Cu(0.5)-Ni(10)/FAC、Cu(0.75)-Ni(10)/FACおよびCu(1.0)-Ni(10)/FACの高温吸着水素量はNi(10)/FACのそれぞれのそれぞれ0.93、0.87、0.83および0.80倍に減少した。

FAC担持Cu-Ni試料で見られた高温吸着水素量の減少は、一部のNiが水素の化学吸着能の低いことが知られる<sup>8)</sup>Cuに被覆されたためと考えられた。また、Cu添加割合に対して高温吸着水素量の減少程度が大きかった。これについてはCu-Ni合金ではCuが表面偏析することが知られており<sup>9)</sup>、今回調製したCu-Ni/FACでもCuが試料表面に偏在した可能性が考えられた。

### 3.3 Cu添加による高温吸着水素の脱離ピーク温度低下

Ni(10)/FACおよびFAC担持Cu-Ni試料の高温吸着水素の脱離ピーク温度を図5に示す。Ni(10)/FAC、Cu(0.25)-Ni(10)/FAC、Cu(0.5)-Ni(10)/FAC、Cu(0.75)-Ni(10)/FACおよびCu(1.0)-Ni(10)/FACにおける高温吸着水素の脱離ピーク温度はそれぞれ111.6、107.3、103.1、99.5および96.2℃だった。

Cu(0.25)-Ni(10)/FAC、Cu(0.5)-Ni(10)/FAC、Cu(0.75)-Ni(10)/FACおよびCu(1.0)-Ni(10)/FACにおける高温吸着水素の脱

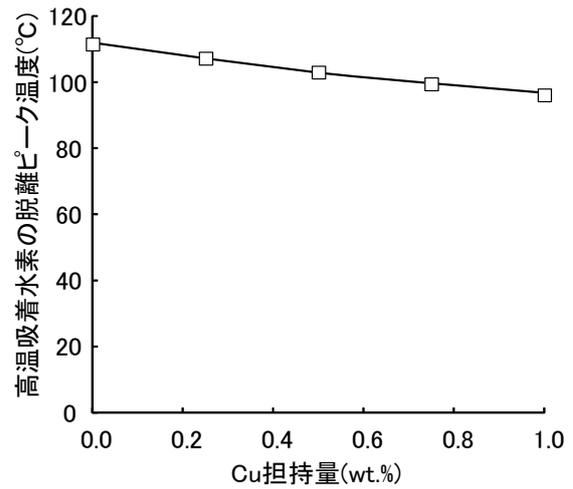


図5 Ni/FACおよびCu-Ni/FACの高温吸着水素の脱離ピーク温度

離ピーク温度はNi(10)/FACのそれと比較してそれぞれ4.3、8.5、12.1および15.4℃低下した。これは、Cu添加によりNiの酸化状態が高くなり、水素の化学吸着力が弱くなったためと考えられた。

このように、Cu添加により脱離ピーク温度を100℃以下に低下できたことから、TSA(Temperature swing adsorption)での温度変動幅を小さくでき、また常圧スチームによる水素脱離も可能となるため、プロセス設計上のメリットとなると考えられた。

## 4 まとめ

- ①FAC担持Ni試料への低温吸着水素はFACへの物理吸着水素、高温吸着水素はNiへの化学吸着水素と考えられた。
- ②Ni担持量の増加とともにNi1mmol当たりの高温吸着水素量が減少した。これはNiの分散性低下によるものと考えられた。
- ③FAC担持Ni試料へのCu添加により高温吸着水素の脱離ピーク温度が低下した。これは、Cu添加によりNiの酸化状態が高くなり、水素の化学吸着力が弱くなったためと考えられた。

## 文献

- 1)NEDO,水素エネルギー白書2014, pp4
- 2)堀田,表面科学,**34**,154(2013).
- 3)大仲,水素エネルギーシステム,**34**,10(2009).

- 4)岡田,安井, 化学工学, **77**, 46(2013).
- 5)恩田,熊澤,塚本,徳田,鈴木, 群馬産業技術センター研究報告(平成 27 年度), 1(2015).
- 6)恩田,熊澤,塚本,徳田,鈴木, 群馬産業技術センター研究報告(平成 28 年度), 1(2016).
- 7)H. C. Suciu, L. Gagea and M. Mocean, *Chem. Eng. Sci.*, **61**, 7831(2006).
- 8) P. Siegbahn, M. Blomberg, I. Panas and U. Wahgren, *Theo. Chim. Acta*, **75**, 143 (1989).
- 9) T. Hashizume et al, 真空, **29**, 259(1986).

## 輸出用に適した群馬清酒酵母の育種に関する研究 (第2報)

渡部貴志・佐藤勝也\*・林 秀謙\*\*・増淵 隆

Breeding of non-urea producing Gunma sake yeasts which are suitable for export  
Takashi WATANABE, Katsuya SATOH,  
Hidenori HAYASHI and Takashi MASUBUCHI

発がん性が疑われているカルバミン酸エチルは、清酒酵母が生産する尿素とエタノールの化学反応により生成する。また、清酒中のカルバミン酸エチル含有量に規制値を設ける国が将来的に増えてくることが懸念されている。そこで本研究では、清酒中のカルバミン酸エチル含有量を減らす目的で、群馬県独自酵母の尿素非生産化に取り組んでいる。本年度では、イオンビーム照射によって尿素非生産性酵母の取得に成功し、パイロットプラントで試験醸造を行ったので報告する。

キーワード：清酒、群馬清酒酵母、尿素、カルバミン酸エチル、イオンビーム

Ethyl carbamate, considered as probably the cause of cancer, is produced on the chemical reaction of urea and ethanol. The material is produced by sake yeasts. It is considered that the countries, regulating volume of ethyl carbamate in Japanese sake, would be also increased. Therefore, the purpose of this study was to reduce the volume of ethyl carbamate in Japanese sake, we attempted to breed Gunma sake yeasts which do not produce urea as a precursor of ethyl carbamate. In this year, we succeed to obtain the candidate by ion-beam irradiation and demonstrated test brewing using the pilot plant.

Keywords: Japanese sake, Gunma sake yeast, urea, ethyl carbamate, ion-beam

### 1 はじめに

清酒は、我が国の主食である米を醸して造る伝統的な酒類であり、國酒として親しまれてきた<sup>1)</sup>。また、清酒の風味は地域性に富み、国内各地の郷土料理とともに独自の飲食文化を形成してきた。一方、欧米諸国からは吟醸酒がライスワインとして認知され、親しまれてきており、近年の日本食ブームで海外輸出量は年々増えている。特に地元産の米や水、酵母で造られる地酒は、ワインでいうテロワールという観点から、欧米諸国から好まれている。

当センターでは、群馬県酒造組合と共同で県独自の吟醸用酵母の開発に取り組んできており、群馬 KAZE 酵母として県内酒蔵に広く普及している<sup>2)</sup>。さらに、県農業技

術センターと共同で県独自の酒造好適米「舞風」も開発している<sup>3)</sup>。これらの成果は、群馬県の清酒輸出量の増大に少なからず、貢献していると言える。

しかしながら、清酒中に含まれるカルバミン酸エチルに規制値を設ける国が増えてくることが懸念されている。カルバミン酸エチルは、国際がん研究機関 (IARC) によって「ヒトに対する発ガン性がおそらくある」とされるグループ 2A に属する化合物である。カルバミン酸エチルは、清酒中の尿素とエタノールが火入れ・貯蔵中に縮合して生成する。したがって、清酒酵母が尿素を生産しなくなれば、清酒のカルバミン酸エチルの生成量は低減できると考えられ、既に実用例が報告されている<sup>4)</sup>。

そこで本研究では、群馬県独自酵母の優

れた醸造特性を維持しつつ、尿素非生産性となった酵母を取得・実用化することを目的に検討している。昨年度は、群馬KAZE酵母2号（KAZE2）に適した尿素非生産化の方法を見出した<sup>5)</sup>。しかしながら、KAZE2の自然変異株では、麴エキス培地での発酵能力が下がってしまうことが分かった。今年度は、イオンビーム照射によりKAZE2だけでなく、群馬KAZE酵母1号（KAZE1）と泡なし群馬G2酵母（G16）の尿素非生産化を試みた。また、KAZE2から得られた試作株について、パイロットプラントで試験醸造したので報告する。

## 2 実験材料と方法

### 2. 1 供試酵母と使用培地

群馬県独自酵母KAZE1、KAZE2、G16は、県内酒蔵に頒布しているスラントのものを使用した。また、昨年度、KAZE2から自然変異により取得した2株の尿素非生産性株は、グリセロールストックにしていたものを用いた。

前培養は、YM培地（酵母エキス3 g/L、麦芽エキス3 g/L、ペプトン5g/L、グルコース10 g/L）を用いた。窒素飢餓処理は、無窒素YNBD培地（YNB w/o amino acids and ammonium sulfate 1.7 g/L、グルコース20 g/L）を用いた。尿素非生産性酵母の選抜培地は、昨年度KAZE2用に改良した<sup>5)</sup>、CAO培地（YNB w/o amino acids and ammonium sulfate 1.7 g/L、カナバニン10 mg/L、アルギニン塩酸塩0.105 g/L、オルニチン塩酸塩0.42 g/L、グルコース20 g/L、寒天20 g/L）、Arg培地（CAO培地の窒素源をアルギニンのみにしたもの）、Orn培地（CAO培地の窒素源をオルニチンのみにしたもの）を用いた。

### 2. 2 尿素非生産性株の選抜方法

YM 5mL含む試験管に酵母を一白金耳接種し、30℃にて24時間、150 rpmの往復振とうにより前培養を行った。得られた前培養液を無窒素YNBD培地に置換し、30℃にて1時間、150 rpmの往復振とうにより窒素飢餓処理をしたものを、改良CAO培地に塗布し、30℃で1~4週間の静置培養を行った。北本らの方法<sup>4)</sup>に準拠し、カナバニ

ン耐性となり改良CAO培地に生えてきた候補株について、Arg培地で生育できず、Orn培地で生育できるものを尿素非生産性酵母として選抜した。また、後述するイオンビーム照射した酵母は、無窒素YNBD培地に再懸濁し、窒素飢餓処理以下同様の処理を行った。

### 2. 3 イオンビーム照射

前報<sup>6)</sup>と同様の方法でイオンビーム照射を行った。YM培地で静置培養した酵母菌体を酢酸セルロースメンブランフィルターで捕集し、滅菌生理食塩水（0.9% NaCl）で洗浄を行った。得られた試料を滅菌済みシャーレ中で凍結乾燥を行い、カプトン膜で上面を覆ったものを照射用試料とした。量研機構高崎量子応用研究所TIARAにて、AVFサイクロトロンを用いて加速した炭素イオンビーム（ $^{12}\text{C}^{5+}$ , 220MeV）を75~200Gyの線量で照射した。

### 2. 4 小仕込み試験

平成26年度兵庫県産山田錦（40%精米）を用い、表1に示す条件で総米200gの変則二段小仕込み試験を行った。麴エキス（Brix 5°）25 mLに酵母を一白金耳接種し、23℃で4日間静置培養を行ったものを酒母の代わりに用いた。麴米は、白夜（菱六）を種麴として製麴したのものを用いた。掛米は洗米後、28%吸水率となるように浸水し、蒸籠で蒸したのものを用いた。追水は13日目に行った。なお、汲水は蒸留水に乳酸を1.05 mL/L加えたものを用いた。

### 2. 5 製成酒の評価

酸度、アミノ酸度、日本酒度は国税庁所定分析法に準拠して分析した。グルコース、マルトース、およびエタノールは、高速液体クロマトグラフ、示差屈折率検出器を用い、分析を行った。香気成分（酢酸エチル、

表1 小仕込み試験条件

	酒母	一段	二段	追水	計
総米(g)		40	160		200
掛米(g)			160		160
麴米(g)		40			40
汲水(mL)	25	160	100	15	300
温度(℃)	-	12	9~12	-	-

表2 パイロットプラントでの仕込み試験条件

	酒母	初添	仲添	留添	追水	計
総米 (kg)	3.0	10.0	18.0	29.0		60.0
掛米 (kg)	2.0	7.0	14.0	25.0		48.0
麴米 (kg)	1.0	3.0	4.0	4.0		12.0
汲水 (L)	4.0	11.0	24.0	42.0	12.0	93.0
温度 (°C)	22	12	8	6~12		

イソアミルアルコール、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル) は、ヘッドスペースガスクロマトグラフを用いて分析した。醸成酒の官能検査は、5点法で行った。

## 2. 6 パイロットプラント醸造試験

平成27年度兵庫県産山田錦(40%精米)を用い、表2に示す配合で総米60kgの試験醸造を行った。酵母の拡大培養は、麴エキス(Brix 5°) 250 mLで23°C、4日間静置培養により行った。麴米は、ハイG(樋口松之助商店)を種麴として製麴したものを用いた。掛米の吸水率は、酒母34%、初添31%、仲添31%、留添31%になるよう調整した。汲水に乳酸24 mL加えて中温速醸にて5日間の酒母造りを行った。なお、汲水は蒸留水を用いた。

## 3 結果と考察

### 3. 1 イオンビーム照射条件の決定

酵母の尿素生産は、細胞内に取り込まれたアルギニンを、酵素アルギナーゼの働きでオルニチンと尿素に加水分解して行われる。北本ら<sup>4)</sup>は、アルギニンのアナログ物質であるカナバニン耐性株の選抜により、アルギナーゼの機能を欠損させることによって、アルギニンから尿素への変換経路が無くなり、酵母の尿素非生産化に成功した。このCAO培地を用いた方法が優れている最大の特徴は、変異処理を施さなくてもアルギナーゼ遺伝子(CAR1)の自然変異株が得られることである。

しかしながら、前年度の検討<sup>5)</sup>により、育種の過程で既に2回の薬剤変異誘発処理をしていることが原因でKAZE2は、自然変異によるKAZE2の尿素非生産化は難しく、かつ取得株の発酵力が下がっていた。そこで、当係で研究実績のあるイオンビーム照射により、KAZE2の優れた醸造特性を維持

した尿素非生産性となった変異株の取得を試みることにした。

線量が高くなると、目的外の位置に変異が入る数が多くなるため、集中的に75、100Gyでのカナバニン耐性株を取得することにした。一方で、照射線量とカナバニン耐性株取得効率の関係は明確ではなかったが(表3)、自然変異による取得効率の8~20倍に上昇した。なお、照射試料調整時の凍結乾燥で凍結前の1%程度しか生菌しておらず、明確な生菌数と線量との関係は見出せなかった。

次に、KAZE2のカナバニン耐性となった89株から、アルギナーゼ欠損となり尿素非生産性となった50株を選抜した。さらに、他の群馬県独自酵母であるKAZE1、G16でも100Gyで検討したところ、取得率の増加が認められ(表3)、それぞれ8株ずつの尿素非生産性株を取得した。

### 3. 2 小仕込み試験による選抜

前報<sup>6)</sup>では、簡易発酵試験培地での発酵試験は、尿素生産性の評価は難しいが、発酵能を評価することが可能であることが分かった。まず、予備試験としてKAZE2の尿素非生産性候補株50株の発酵能を調べたと

表3 線量とカナバニン耐性株数の関係

株	線量 (Gy)	枚数	取得数
KAZE2	自然	400	4
	75	280	50
	100	140	19
	125	40	3
	150	40	5
KAZE1	200	40	8
	自然	40	3
G16	100	40	7
	自然	40	2
	100	40	6

ころ、多くの候補株の発酵能力は下がっており、8株しか親株と同程度の発酵能力を維持していなかった（データ略）。そこで、この8株について、実際の酒造りを模した小仕込み試験により、発酵能力と醸造特性を調べることにした。

イオンビーム照射による多くの候補株は、発酵能力が親株KAZE2と同程度であったのに対し、自然変異により取得した候補株は発酵力が下がっていた（図1）。一方、KAZE2は尿素を4.9 mg/L生産していたのに対し、75Gy-6を除く全ての候補株の試験酒は検出限界以下（ND）であり、尿素非生産性であることが数値的にも確認できた（表4）。なお、官能評価は職員5名で行った。一方、各種成分は、株によるばらつきが大きく、100Gy-5と100Gy-7が比較的KAZE2の醸造特性を維持しており（表4）、その後の検討で、100Gy-7を試作株として選抜した（データ省略）。

次に、KAZE1とG16について、小仕込み試験を行ったところ、いずれの候補株も尿素は検出されなかった（データ省略）。一方、KAZE1（図2）、G16（図3）ともにイオンビーム照射による候補株は、親株に

比べて重量減少量が低くなるものが多かったのに対し、自然変異によるものは、親株と同等のものが多かった。また、イオンビーム照射による候補株は、製成酒の香気成分なども親株と大きく異なるものが多く、自然変異による候補株の方が、醸造特性に与える影響が少なかった。

これらの結果から、前報<sup>6)</sup>で推測したように、KAZE2のような自然変異で発酵力が下がった場合にのみ、イオンビーム照射等の変異誘発処理が有効であると示された。また、カナバニン耐性かつ非アルギニン資化性となっても、小仕込み試験で尿素が検出される株が出てきたことから、小仕込み試験で選抜する必要性も確認できた。なお、この現象は、*CARI*遺伝子の変異がアミノ酸置換に留まりアルギナーゼが完全に失活していない、あるいは変異点が元に戻ったなどが推測されるが、今回の研究目的と合致しないので解析しなかった。

### 3. 3 試作株の実用性の評価

育種酵母を実用化する場合、先の小仕込み試験の検討で候補株を選抜した後、パイロットプラントで一連の清酒製造工程を行

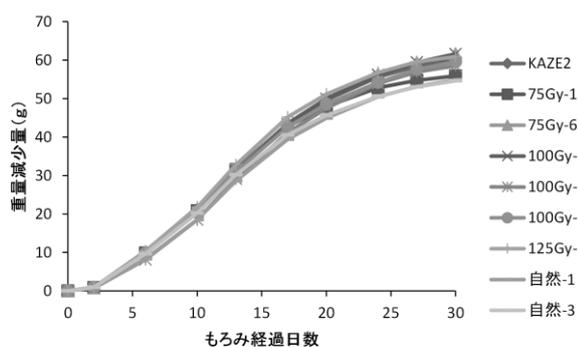


図1 経日的重量減少量の変化 (KAZE2)

表4 製成酒の評価のまとめ (KAZE2)

	尿素	カブロン酸エチル	酸度	EtOH	官能評価
	(mg/L)	(mg/L)			
KAZE2	4.9	6.8	2.7	18.2	2.9
75Gy-1	ND	7.1	2.8	16.9	3.0
75Gy-6	2.8	2.7	2.6	18.7	4.1
100Gy-2	ND	2.6	2.8	18.3	3.2
100Gy-5	ND	7.2	2.7	17.6	2.8
100Gy-7	ND	8.1	2.9	18.1	2.8
125Gy-1	ND	6.9	2.7	18.4	3.3
自然-1	ND	13.3	3.0	16.6	3.2
自然-3	ND	14.7	2.9	16.6	3.6

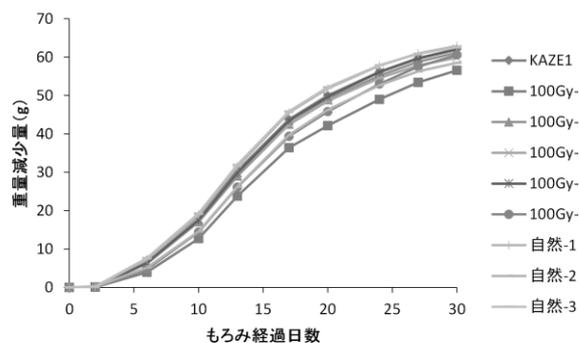


図2 経日的重量減少量の変化 (KAZE1)

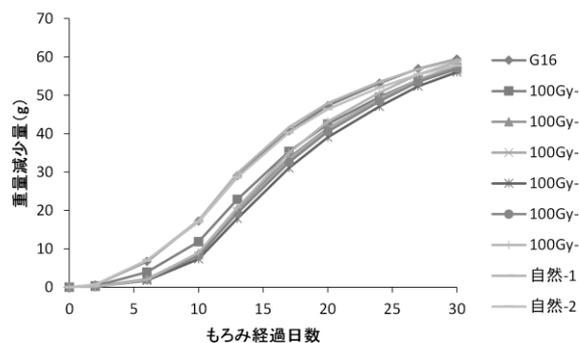


図3 経日的重量減少量の変化 (G16)

表5 KAZE2のパイロットプラント醸造試験のもろみ経過のまとめ

KAZE2	酒母				もろみ																
	2d	4d	5d	添加前	踊り	4d	6d	8d	11d	13d	15d	18d	20d	22d	25d	27d	29d	32d	33d	35d	
エタノール (%)	0.0	6.6	9.7	10.0	3.3	4.6	7.0	9.2	12.5	13.6	14.9	16.1	14.9	15.5	16.4	16.9	16.8	17.6	-	-	
グルコース (%)	13.1	11.3	7.9	7.9	15.3	12.7	11.5	9.6	6.9	5.6	4.9	4.2	4.6	4.2	3.9	3.5	3.4	2.9	-	-	
マルトース (%)	4.4	3.8	3.3	3.0	3.4	2.1	2.2	2.1	1.8	1.6	1.5	1.3	0.5	0.4	0.8	0.6	0.6	0.4	-	-	
酵母数 (10 <sup>8</sup> 個/mL)	-	1.9	1.8	1.6	1.4	-	1.9	1.8	1.8	1.5	1.4	1.6	1.3	0.9	1.1	0.8	0.9	1.0	-	-	
生菌率 (%)	-	94.7	97.1	96.8	100.0	-	100.0	91.9	94.7	88.5	89.3	92.9	91.7	88.9	76.5	82.4	70.0	65.0	-	-	
イソアミルアルコール (ppm)	-	-	-	-	-	55.4	80.0	98.4	128.3	134.7	143.0	141.7	136.2	143.3	147.7	153.8	137.8	144.3	-	-	
酢酸イソアミル (ppm)	-	-	-	-	-	0.5	1.3	2.2	3.4	3.6	3.9	3.7	2.4	3.2	2.1	2.7	1.0	1.5	-	-	
カプロン酸エチル (ppm)	-	-	-	-	-	0.6	2.4	3.7	5.8	6.5	7.3	7.1	4.3	5.6	4.2	5.0	2.4	3.6	-	-	
酢酸エチル (ppm)	-	-	-	-	-	9.3	20.0	29.6	46.8	54.4	56.7	55.7	39.4	54.5	40.0	51.8	20.5	31.9	-	-	
イソブチルアルコール (ppm)	-	-	-	-	-	21.7	31.4	38.6	47.3	47.0	47.6	46.0	44.6	44.9	45.5	47.7	41.2	45.3	-	-	
E/A比	-	-	-	-	-	0.9	1.7	2.2	2.6	2.7	2.7	2.6	1.7	2.2	1.4	1.8	0.7	1.0	-	-	

表6 試作株のパイロットプラント醸造試験のもろみ経過のまとめ

試作株	酒母				もろみ																
	2d	4d	5d	添加前	踊り	4d	6d	8d	11d	13d	15d	18d	20d	22d	25d	27d	29d	32d	33d	35d	
エタノール (%)	0.0	6.5	9.3	10.5	3.1	4.5	6.8	9.0	11.8	13.3	14.7	15.4	14.3	15.0	16.2	16.6	16.4	17.0	-	17.2	
グルコース (%)	12.7	10.7	8.9	7.9	15.1	12.1	12.2	10.6	7.9	6.4	5.6	4.7	5.2	4.7	4.4	3.9	3.8	3.6	-	3.8	
マルトース (%)	5.2	4.0	3.1	2.9	3.9	1.6	2.2	2.2	1.9	1.7	1.5	1.4	0.6	0.6	0.9	0.6	0.6	0.5	-	0.6	
酵母数 (10 <sup>8</sup> 個/mL)	-	2.4	2.5	1.5	1.2	-	1.4	1.3	1.4	1.3	1.1	1.2	1.0	1.0	0.8	0.8	0.7	0.7	-	-	
生菌率 (%)	-	97.9	95.9	96.6	100.0	-	100.0	96.2	93.1	91.7	90.9	90.9	90.5	88.9	85.7	80.0	84.6	73.3	-	-	
イソアミルアルコール (ppm)	-	-	-	-	-	83.6	98.2	118.4	147.3	152.0	161.4	166.7	158.1	151.3	160.3	162.0	144.6	151.4	-	164.0	
酢酸イソアミル (ppm)	-	-	-	-	-	0.7	1.9	3.2	4.6	4.8	5.0	5.0	3.3	4.0	2.5	3.4	1.1	1.7	-	3.3	
カプロン酸エチル (ppm)	-	-	-	-	-	0.9	2.7	4.1	5.6	7.0	7.8	8.0	5.1	6.2	4.0	5.3	2.4	3.5	-	6.7	
酢酸エチル (ppm)	-	-	-	-	-	10.5	19.3	32.2	56.5	51.9	56.9	60.1	42.7	55.1	36.7	49.7	19.0	21.8	-	54.2	
イソブチルアルコール (ppm)	-	-	-	-	-	28.3	35.7	44.7	55.5	49.3	53.2	53.5	47.9	47.2	49.3	49.7	42.7	43.8	-	50.2	
E/A比	-	-	-	-	-	0.8	1.9	2.7	3.1	3.1	3.1	3.0	2.1	2.7	1.6	2.1	0.8	1.1	-	2.0	

#### 4 まとめ

い、もろみ経過データと製成酒を検証する必要がある。その結果を踏まえ、酒造会社にどのような性質を持った株で、どのような造り方をしたら良いかを提案できるようになる。そこで、KAZE2とその尿素非生産性酵母の試作株 (100Gy-7) について、センター内のパイロットプラントを用い、総米60 kgの試験醸造を行った。

試験醸造酒について、20名で官能評価した結果、試作株のものの方 (2.95) が、親株 (3.00) より評価が若干高く、酒質として同等であると判断することができた。

一方、もろみ経過では、親株 (表5) に比べて試作株 (表6) は、ボーメのキレやアルコール分の生成が遅れている結果となってしまった。これは、小仕込み試験でもみられていた結果と同じであり、KAZE2の尿素非生産性変異株は全体的に発酵力が下がっていたことから、許容範囲とした。一方で、各段階の掛米の品温が仕込みタンクによって異なってしまい、そのことが掛米の溶解具合に影響を与えてしまった可能性も考えられる。

本研究では、清酒中のカルバミン酸エチル含有量を減らす目的で、群馬県独自酵母 KAZE1、KAZE2、G16から、その前駆物質の尿素を生産しない候補株を取得した。また、KAZE2からイオンビーム照射により取得した試作株については、パイロットプラント醸造試験を行い、尿素非生産以外は親株と同等の酒質となることを確認した。

#### 謝 辞

群馬県醸造会の会員の皆様には、試験醸造酒の官能評価を行って頂いた。

#### 文 献

- 1) 和田美代子：日本酒の科学 (2015)
- 2) 増渕 隆ら：平成17年度群馬産業技術センター研究報告、35-38
- 3) 増渕 隆ら：平成18年度群馬産業技術センター研究報告、40-43
- 4) 北本勝ひこら：日本醸造協会誌、106-114 (1993)
- 5) 渡部貴志ら：平成28年度群馬産業技術センター研究報告、11-14
- 6) 増渕 隆ら：平成21年度群馬産業技術センター研究報告、12-14

# 試験分析高度化研究

# バラ積みピッキングロボット用の深層強化学習手法の開発

## （第1報）

町田晃平・石黒 聡・細谷 肇\*

Development of Deep Reinforcement Learning for bulk picking robot

(1st Report)

Kouhei MACHIDA, Satoshi ISHIGURO, Hajime HOSOYA

深層強化学習 Deep Q-Learning によるロボットのバラ積みピッキングを提案する。実機で深層強化学習を行う場合、深層強化学習だけでは実用的な時間内に学習を終えることが難しいが、人間のオペレーションによる事前学習を組み合わせることで、実用的な時間内に学習を終えられる可能性があることを確認した。

キーワード：AI、深層強化学習、ロボット

We propose bulk picking robot using deep reinforcement learning called as Deep Q-Learning. When deep reinforcement learning is carried out on actual machine, it is difficult to finish learning within a practical time. However, it was confirmed that by combining pre-training by human operation, there is a possibility of finishing learning within practical time.

Keywords : Artificial Intelligence, Deep Reinforcement Learning, Robot

### 1 はじめに

工場の生産性を高めるため、工場のスマートファクトリー化に大きな期待が寄せられている。しかし、現状では、現場の多くの作業を人手に頼っている状況である。そのような作業の一つとして、バラ積みされた部品の取り出しがある。

バラ積み部品は複雑に重なり合っているため、従来の画像処理手法ではピッキング箇所の取得が難しいという問題があった。

一方、近年の AI（人工知能）技術の発達により、特に画像認識分野においては様々な成果が報告されている。AI 技術の中の深層強化学習は、AI が目的を達成するために自ら試行錯誤を繰り返して学習し、最適な行動方法を獲得していく手法である。深層強化学習は、事前に学習データを用意する必要がなく、AI が高いスキルを獲得することができるため、産業分野への応用が期待されている。特に、ロボットの

バラ積みピッキングの場合、ピッキング用の学習データがほとんど存在しないため、この深層強化学習によるピッキング習得への期待が大きい。

そこで、本研究では、深層強化学習を用いたロボットのバラ積みピッキング習得を目指す。

### 2 研究方法

#### 2. 1 強化学習

強化学習は、エージェント（AI）と環境の相互作用から学習を行う。強化学習の枠組みを図 1 に示す。エージェントは、あるタイムステップ  $t$  において、観測した状態  $s_t \in S$  から行動  $a_t \in A$  を選択する。それにより、エージェントは環境から報酬  $r_{t+1} \in R$  と次の状態  $s_{t+1}$  を受け取る。本研究において、状態はカメラから取得した画像、行動はロボットアームの移動またはピッキングである。

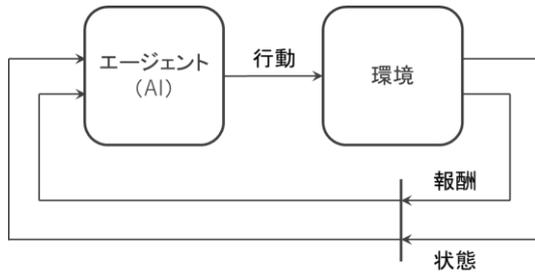


図 1 強化学習の枠組み

強化学習において、エージェントの目標は、受け取る報酬の累積（収益）を最大化することである。収益は以下のように定義される。

$$R_t = \sum_{k=0}^T \gamma^k r_{t+k+1} \quad (1)$$

ここで、 $\gamma(0 \leq \gamma \leq 1)$ は割引率と呼ばれ、将来の報酬への割引を決定するパラメータである。また、 $T$ はタイムステップの終端を表す。

方策 $\pi$ のもと、状態 $s$ において行動 $a$ を取るこの価値を行動価値関数 $Q^\pi(s, a)$ として表す。行動価値関数は以下のように定義される。

$$\begin{aligned} Q^\pi(s, a) &= E_\pi\{R_t | s_t = s, a_t = a\} \\ &= E_\pi\left\{\sum_{k=0}^T \gamma^k r_{t+k+1} | s_t = s, a_t = a\right\} \quad (2) \end{aligned}$$

上式のように、行動価値関数は期待報酬として表される。エージェントに行動価値関数を学習させるアルゴリズムを Q 学習と呼ぶ。Q 学習では、以下のように行動価値関数を更新する。

$$\begin{aligned} Q(s_t, a_t) &\leftarrow Q(s_t, a_t) \\ &+ \alpha \left[ r_{t+1} + \gamma \max_a Q(s_{t+1}, a) - Q(s_t, a) \right] \quad (3) \end{aligned}$$

学習で獲得される行動価値関数は、使われている方策とは独立に、最適行動価値関数 $Q^*$ を近似する。これにより、エージェントは現在の状態 $s_t$ から行動価値関数を用いて最適な行動 $\max_a Q^*(s_t, a)$ を取ることができるようになる。

## 2. 2 深層強化学習

本研究では、深層強化学習のアルゴリズムとして、Mnih らによって提案された Deep Q-Learning<sup>1)</sup>を用いた。Deep Q-Learning は、Q 学習における行動価値関数をニューラルネットワークによって近似する手法である。Deep Q-Learning におけるニューラルネットワークを Deep Q-Network (DQN) と呼ぶ。



図 2 実験用ロボット

DQN に状態を入力することで、各行動を行った場合の価値が出力される。

近似された行動価値関数は $Q(s, a; \theta)$ と表される。ここで、 $\theta$ はニューラルネットワークのパラメータに相当する重みとバイアスである。Deep Q-Learning では、このパラメータ $\theta$ を学習により更新する。学習は、深層学習で使用される誤差逆伝播法を用いる。

Deep Q-Learning のアルゴリズムをアルゴリズム 1 に示す。アルゴリズム 1 において、リプレイメモリ $D$ は、遷移情報 $(\phi_t, a_t, r_t, \phi_{t+1})$ を格納しておくためのメモリである。学習の際には、このリプレイメモリ $D$ から遷移情報のミニバッチ $(\phi_j, a_j, r_j, \phi_{j+1})$ を取り出して学習を行う。これは、Experience Replay（経験再生）と呼ばれる手法である。時系列として相関のない状態・行動・報酬の組を用いて学習した方が、学習の効率が上がるため、Deep Q-Learning ではこの Experience Replay が用いられている。また、学習時は試行錯誤による探索を促すため、 $\epsilon$ -greedy 方策に従って確率 $\epsilon$ でランダムな行動を選択する。それ以外の場合には、最適な行動 $\max_a Q^*(s_t, a; \theta)$ を選択する。

## 2. 3 実験条件

実験に用いたロボットを図 2 に示す。ロボットは、小型のロボットアーム uArm Swift Pro (UFACTORY 社)を用いた。uArm Swift Pro は、pyuf と呼ばれる Python ライブラリをインストールすることで、Python による制御が可能である。カメラは、OpenMV Cam M7 (OpenMV 社)を用いた。今回の実験では、

## アルゴリズム 1 Deep Q-Learning

リプレイメモリ  $D$  をキャパシティ  $N$  に初期化する

行動価値関数  $Q(s, a; \theta)$  をランダムな重み  $\theta$  で初期化する

各エピソード (1~ $M$ ) に対して繰り返し:

初期画像  $x_1$  を初期状態  $s_1 = \{x_1\}$  として初期化し前処理  $\phi_1 = \phi(s_1)$  を行う

各タイムステップ (1~ $T$ ) に対して繰り返し:

行動  $a_t = \begin{cases} \text{random} & (\text{確率 } \varepsilon) \\ \max_a Q^*(s_t, a; \theta) & (\text{確率 } \varepsilon - 1) \end{cases}$  を選択する

行動  $a_t$  を実行し報酬  $r_t$  と次の画像  $x_{t+1}$  を受け取る

次の状態  $s_{t+1} = s_t, a_t, x_{t+1}$  をセットし前処理  $\phi_{t+1} = \phi(s_{t+1})$  を行う

遷移情報  $(\phi_t, a_t, r_t, \phi_{t+1})$  をリプレイメモリ  $D$  に格納する

リプレイメモリ  $D$  から遷移情報  $(\phi_j, a_j, r_j, \phi_{j+1})$  のミニバッチを取り出す

教師データ  $y_j = \begin{cases} r_j & (\phi_{t+1} \text{ が終端の場合}) \\ r_j + \gamma \max_{a'} Q(\phi_j, a'; \theta) & (\phi_{t+1} \text{ が終端でない場合}) \end{cases}$  をセットする

教師データと行動価値関数の誤差  $(y_j - Q(\phi_j, a_j; \theta))^2$  を求め誤差逆伝搬を実行する

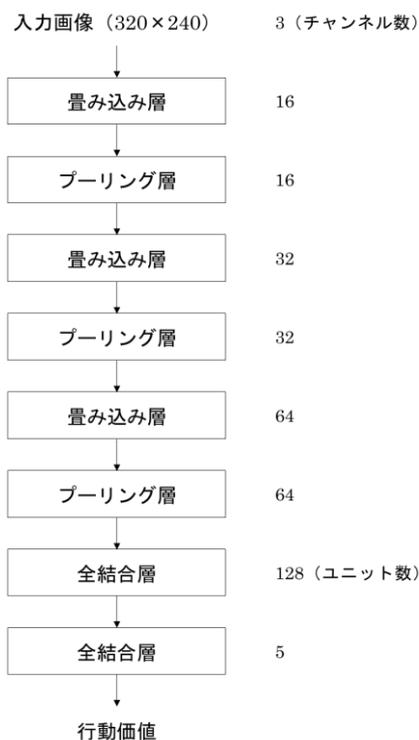


図3 Deep Q-Network の構造

バラ積みピッキングの前段階として、平面に置かれたペットボトルキャップのピッキングを深層強化学習により行った。

Deep Q-Learning のプログラムは、深層強化学習ライブラリ ChainerRL を用いて実装した。DQN へ入力する画像は、OpenMV より取得した 320x240 ピクセルの画像である。色情報は RGB の 3 チャンネルである。

エージェントは各タイムステップにおいて、アームの水平方向の上・下・左・右移動および

ピッキングの 5 つの行動から選択を行う。ピッキングを選択した場合は、アームを垂直方向に下げてピッキングし、元の位置まで戻してピッキングを離す動作を行う。この時、uArm Swift Pro のピッキング判定によりピッキングの成功が確認されれば、エージェントに報酬 1 が与えられる。ピッキングに失敗した場合やアームを移動した場合の報酬は 0 である。タイムステップの終端  $T$  は 100 とした。タイムステップの終端  $T$  が終わると、アームは初期位置に戻り、次のエピソードが開始される。

実験に使用した DQN の構造を図 3 に示す。3 層の畳み込み・プーリング層と 2 層の全結合層からなるニューラルネットワークである。3 チャンネルの入力画像 (320x240) に対し、1 層目の畳み込み層で 16 チャンネル、2 層目の畳み込み層で 32 チャンネル、3 層目の畳み込み層で 64 チャンネルに畳み込みを行っている。各畳み込み層のカーネルサイズは 5、ストライドは 2、パディングは 2 とした。活性化関数は Leaky ReLU を用いた。各畳み込み層の後にはプーリング層を経由する。各プーリング層は最大プーリングであり、プーリング窓サイズは 3、ストライドは 3 とした。全結合層のユニット数は、1 層目を 128、2 層目を 5 とした。2 層目の 5 つのユニットの出力が、5 つの行動の価値に相当する。1 層目の全結合層の活性化関数は Leaky ReLU を用いた。

学習の最適化手法は、SGD (確率的勾配降下

法)を用いた。SGDの学習率は0.01とした。学習時のGPUは、NVIDIA GeForce 1080 Tiを用いた。

報酬の割引率 $\gamma$ は0.99とした。 $\epsilon$ -greedy 方策の確率 $\epsilon$ は、初期タイムステップで0.8、その後各タイムステップで線形に減少させ、2000タイムステップ(20エピソード)で0.3となるようにした。リプレイメモリ $D$ のキャパシティ $N$ は1,000,000とした。Experience Replayには、教師データと行動価値関数の誤差が大きい遷移情報を優先的に取り出して学習を行うPrioritized Experience Replay(優先順位付き経験再生)を用いた。

### 3 研究結果

今回、およそ1日かけて1万回の試行をして学習させたが、ピッキングを習得できなかった。これは試行回数が少ないためであったと考えられる。Mnihらは、Atari 2600のゲームをDeep Q-Learningで学習させ、人間を超えるレベルの技術を獲得させることに成功しているが、これはおよそ50時間かけて100万回以上の試行を行った結果である。一方、ゲームなどのシミュレーションと異なり、実機の場合は物理的な動作を伴うため、1回の試行に時間がかかってしまう。そのため、実機において知識ゼロの状態から深層強化学習で技術を習得させることは、実用面で難しいと考えられる。

そこで、本研究では、事前に人間のオペレーションによる学習をさせたいうえで、深層強化学習を行った。事前の学習は、各タイムステップにおいて人間のオペレータがカメラ画像をもとに5つの行動を選択することで行った。この事前学習による試行を1,000回行った後、深層強化学習による試行を2,000回行ったところ、事前学習だけではピッキングを習得できなかったが、深層強化学習後にはピッキングを習得した。

以上のことから、実機で深層強化学習を行う場合、人間のオペレーションなどから手に入れた教師データをもとにDQNを事前学習させておくことで、実用的な時間内に学習を終えられる可能性があることが示唆された。

## 4 まとめ

深層強化学習 Deep Q-Learning を用いてロボットのピッキング学習を行った。本研究により、実機で深層強化学習を行う場合、実用的な時間内で学習を完了させるには、人間のオペレーションによる事前学習が有効であることが確認された。

今後は、本研究で得られた知見をもとにバラ積みピッキングの習得を目指す。同時に、事前学習と得られる性能の関係について調査を行う。

また、本研究で扱った深層強化学習は、最適制御が求められる分野には適用できる可能性があるため、他分野への応用についても検討を行う。

### 文献

- 1) Volodymyr Mnih, *et al.* : Human-level control through deep reinforcement learning, *Nature*, 518(7540):529, 02(2015)
- 2) Richard S.Sutton, Andrew G.Barto : 強化学習、森北出版
- 3) 牧野貴樹、澁谷長史、白川真一 : これからの強化学習、森北出版
- 4) 岡谷貴之 : 深層学習、講談社

# 広域大段差対応白色干渉計による ステッチング測定条件の最適化

増田直也

Study of the optimization of stitching measurement conditions with the use of white color interferometer corresponding to measuring of broad area and multilevel  
Naoya Masuda

これまでの測定において、面の形状を補正するフィルタの各種条件設定値が未検証であったため、測定者や測定物の表面性状によって測定値に差が生じていた。このため、ステッチング測定条件について調査検証を実施し、測定条件の最適化を行った。

キーワード：ステッチング測定、白色干渉計(Nexview)、表面性状、面粗さ(Sa)、線粗さ(Ra)

In the last measurement, we have inadequately tested condition settings of figure compensation filter, as it turned out, we caused a measurement value error depending on surface texture of measured object or measurer. Consequently we conducted optimization of measuring conditions through that performed a survey and validation about stitching measuring condition.

Keywords: stitching measurement, white color interferometer(Nexview), surface texture, surface roughness(Sa), line roughness(Ra)

## 1 はじめに

表面粗さ測定は測定物の表面の性質や状態・特性といった表面性状を把握する上で非常に重要な手段のひとつである。近年では、製品の表面に緻密な機能を持たせたものも数多くあり、その多様化・高度化に伴って、表面粗さ測定の必要性和ニーズは年々高まっている。

測定機には、触針式の粗さ測定機や本研究で使用した光学式の白色干渉計、AFMやSEM等の原子間力顕微鏡や電子顕微鏡などがある。これらの装置はユーザーのニーズに合わせて使い分けが行われている。しかしながら、これらの装置に共通していることとして、表面のうねりや歪みといった形状を除去するための各種条件値等はユーザーに委ねられているため、ユーザーの主観によって測定値が変わってしまうことが確認されている。

このため、わが国では現在、ユーザーの

利便性や測定結果に普遍性を持たせるための標準化が行なわれている。内容としては表面性状測定に関する国際標準規格であるISO25178をベースに、JIS規格へ順次翻訳されている状況にある(JIS B 0681-6)。

本研究では、まず、ISO25178に準拠した白色干渉計(Nexview)と従来型の触針式表面粗さ計を用いて、それぞれの装置の測定値にどれくらいの差があるのか相関関係を確認する。また、ISO25178の中でも測定者によって設定値が変わる恐れのある条件項目である面粗さ測定(ステッチング測定)時のフィルタ条件について焦点を当て、ISO25178の妥当性について確認する。また、白色干渉計と同レベルの測定が可能なAFMと白色干渉計との測定値の比較を行い、その違いについて検証を行うものである。

## 2 研究内容

### 2.1 線粗さおよび面粗さ測定値の相関調査

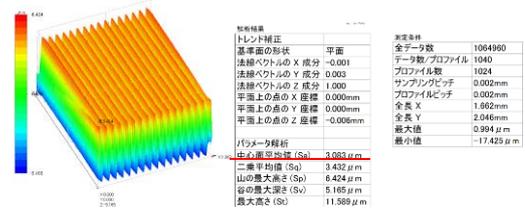
本研究に先立ち、まずは、従来の触針式粗さ測定機と本研究に用いた光学式の白色干渉計の測定値にどのくらい差があるのか相関調査を行った。なお、線粗さとは2次元的な粗さのことを指し(図1)、代表的な粗さパラメータに算術平均粗さRaなどがある。一方、面粗さとは3次元的な粗さのことを意味し(図2)、Raの面粗さ版である算術平均粗さSaなどが粗さパラメータとして定義されている。なお、線粗さと面粗さ測定は本研究で用いた触針式および白色干渉計の両方の装置で可能である。

#### 2.1.1 線粗さ測定値の相関調査

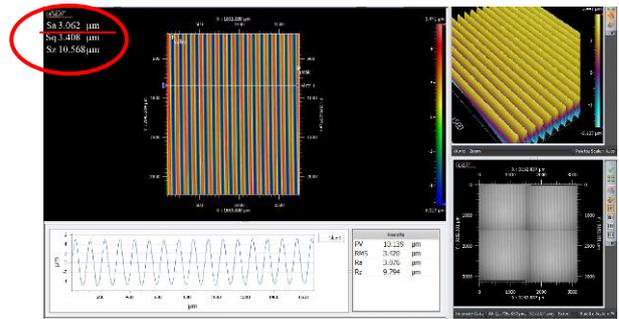
方法は、粗さの異なる粗さ標準片(図3(a)~(d))を使用し、表1で示す現在の触針式のJIS規格(JIS B 0601)に合わせた条件で測定を行った。

#### 2.1.2 面粗さ測定におけるフィルタ検証

面粗さ測定において、うねりを除去する形状フィルタの設定方法についてはまだJIS規格では明確化されていない。そのため、



(a) 触針式粗さ計による面粗さ測定結果

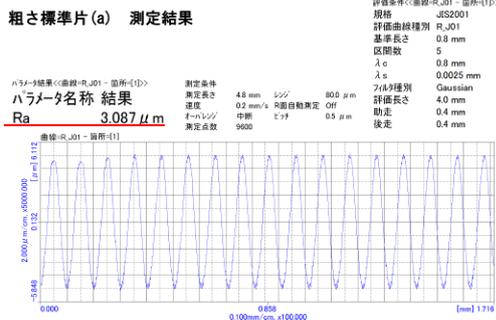


(b) 白色干渉計による面粗さ測定結果

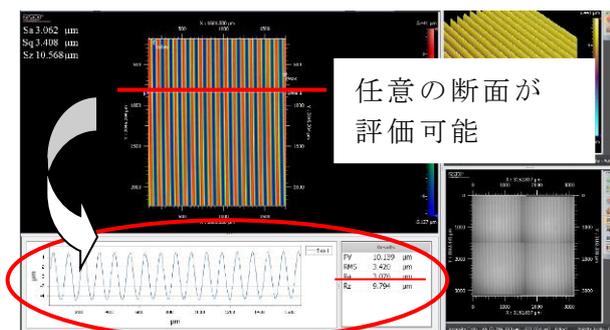
図2 面粗さ測定例

表1 測定条件 (JIS B 0601)

粗さ範囲 ( $\mu\text{m}$ )	基準 長さ (mm)	ハイパ スフィ ルタ	ローパ スフィ ルタ
$Ra \leq 0.02$	0.025	2.5 $\mu\text{m}$	80 $\mu\text{m}$
$0.02 < Ra \leq 0.1$	0.08	2.5 $\mu\text{m}$	250 $\mu\text{m}$
$0.1 < Ra \leq 2$	0.8	2.5 $\mu\text{m}$	800 $\mu\text{m}$
$2 < Ra \leq 10$	2.5	8 $\mu\text{m}$	2500 $\mu\text{m}$
$10 < Ra \leq 80$	8	25 $\mu\text{m}$	8000 $\mu\text{m}$



(a) 触針式粗さ計による線粗さ測定結果

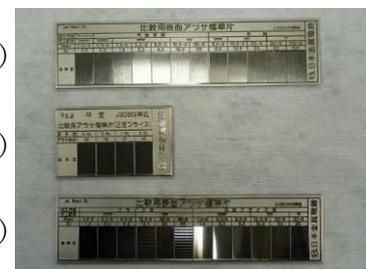


(b) 白色干渉計による線粗さ測定結果

図1 線粗さ測定例



(a)



(b)

(c)

(d)

図3 使用した粗さ標準片

本研究では面粗さ測定値の相関調査の前に、ISO25178に従い、ハイパスおよびローパスフィルタの設定値について妥当性検証を行った。方法は、線粗さ測定で用いた標準片(図3(a))を使用して、フィルタ設定

値についてパラメータ振りを行い、フィルタ補正後の粗さ測定値について、比較検証を行った。

### 3 測定機器

本研究で使用した測定機器を図6～図8にそれぞれ示す。

表2 フィルタ条件 (ISO25178)

ハイパスフィルタ (L-フィルタ)	ローパスフィルタ (S-フィルタ)
うねり周期の5倍以上の長さ(表面状態に応じて要調整)	水平方向分解能の3倍以上の長さ

#### 2. 1. 3 面粗さ測定値の相関調査

方法は、線粗さ測定で用いたものと同じ標準片(図3(a)～(d))を使用し、前節で検証した表2の条件で測定を行った。

#### 2. 2 AFMと白色干渉計の粗さ測定値の比較

AFM(原子間力顕微鏡)においても表面粗さを評価することができ、また、白色干渉計と測定範囲や測定分解能も近いことから(図4)、本研究で用いた白色干渉計の粗さ測定値とどのくらい違いがあるのか確認を行った。

方法は、表面が非常に滑らかなものとして、新品のブロックゲージと光学素子(NDフィルタ)を選定し、評価エリアを $30 \times 30 \mu\text{m}$ として、線粗さRaおよび面粗さSaについて比較検証を行った。

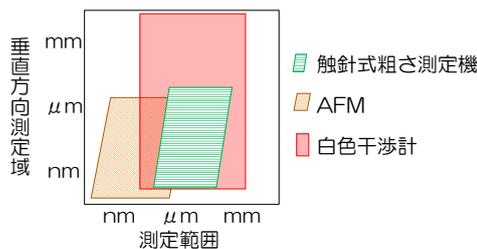


図4 測定分解能と測定範囲



図5 測定サンプル外観  
(左: ブロックゲージ、右: NDフィルタ)



図6 広域大段差対応白色干渉計



図7 触針式表面粗さ計



図8 AFM

## 4 結果および考察

### 4.1 線粗さ測定値の相関

粗さの異なる標準片を用いて触針式および白色干渉計にて線粗さ Ra を測定し、その相関関係を比較した。その結果を図 9 に示す。

結果から、相関係数が 0.998 であることがわかった。このことから、白色干渉計の測定値に JIS 規格の評価条件(表 1)を適用して粗さを評価しても触針式の結果とほぼ同値になることが確認できた。しかしながら、粗さが小さい場合には、触針式と白色干渉計の結果にわずかに差が見られた。この理由は、触針式の場合、針の先端が 2  $\mu\text{m}$  なので、それより小さい溝幅があるときには針先が溝底まで入り込むことができない。そのため、実際の値よりも小さい粗さとして測定されてしまっていることが差の原因として考えられる(図 10)。

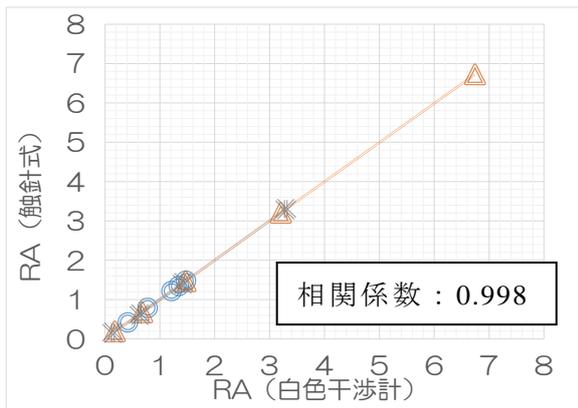


図 9 線粗さ測定値の相関関係

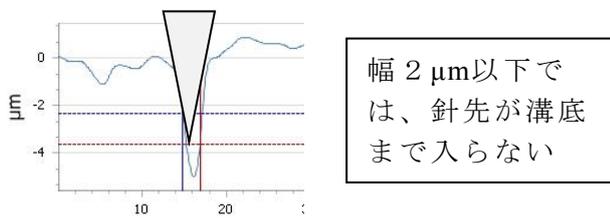


図 10 触針式の針先と溝形状

### 4.2 面粗さ測定におけるフィルタの検証

粗さ標準片(図 3 (a))を使用し、ローパスフィルタおよびハイパスフィルタの値に対してパラメータ振りを行い、ISO25178 に従ってハイパスおよびローパスフィルタの設定値について妥当性検証を行った。その

結果を図 11 に示す。

図 11 から、ハイパスフィルタではうねり周期の 5 倍以上、かつ、ローパスフィルタでは水平方向分解能の 3 倍以上の値で粗さ標準片の値と同等となることが確認できた。

これによって、ISO25178 で規定された面粗さの評価条件について、白色干渉計でもその妥当性が確認できた。

		水平方向分解能			粗さ標準片② (Ra=3.09 $\mu\text{m}$ )
		ローパス 1倍 (0.52 $\mu\text{m}$ )	3倍	10倍	
うねり 周期	ハイパス	0.25倍	0.127	0.125	0.106
	0.5倍	0.467	0.466	0.450	
	1倍 (102 $\mu\text{m}$ )	1.502	1.501	1.486	
	5倍	3.042	3.041	3.025	
	10倍	3.058	3.057	3.042	

図 11 フィルタ検証結果

### 4.3 面粗さ測定値の相関

線粗さ測定と同じ標準片(図 3 (a)~(d))を用いて触針式および白色干渉計にて算術平均面粗さ Sa を測定し、その相関関係を比較した。その結果を図 12 に示す。

結果から、相関係数が 0.9999 となることがわかった。このことから、触針式の粗さ計で ISO25178 の規格で粗さを評価しても白色干渉計の結果とほぼ同値になることが確認できた。

また、線粗さの結果よりも相関が高くなっている。この理由には、面粗さ測定では表面の凹凸形状を 3 次的に評価しているため、線粗さによる評価より情報量が多く、平均化されており、信頼性の高い結果となっているためだと考えられる。

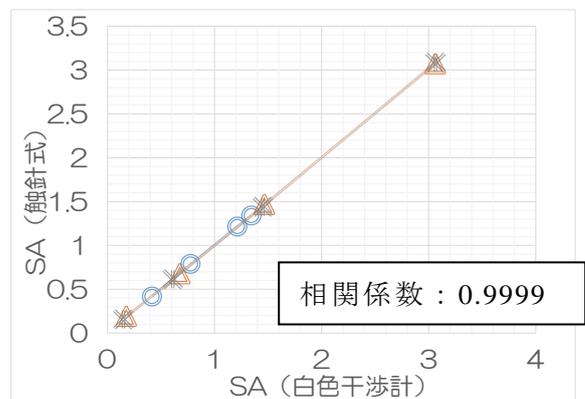


図 12 面粗さ測定値の相関関係

#### 4. 4 AFM と白色干渉計の比較

ブロックゲージと ND フィルタの表面粗さについて、AFM と白色干渉計を用いて測定を行った。その結果を図 1 3 および表 3 に示す。

まず、ブロックゲージでは線粗さ Ra は約 0.18 nm の差、面粗さ Sa は約 0.75 nm の差であった。一方、ND フィルタでは線粗さ Ra は約 2.18 nm の差、面粗さ Sa は約 4.60 nm の差が確認された。

これらの差の原因について考察すると、まず、ブロックゲージについては、測定する箇所による違いが考えられる。ブロックゲージは均一に作られたものであるので、場所による違いというのがほとんど無いように思われるが、今回の評価レベルがサブナノオーダーであるため、測定場所の違いによる非常に小さな凹凸の差が結果に反映したものと考えられる。

一方、ND フィルタについては、温度ドリフトによるものと推測される。これは、ND フィルタの測定がブロックゲージ測定の約 1 時間後に行ったものであり、試料が温度ドリフトの影響を受けたものと推察される。さらには、ND フィルタの表面は機能性表面となっている（凹凸のパターンおよび高さが不均一）ため、測定する箇所に

よって粗さが大きく変わってしまったことが原因として考えられる。

表 3 表面粗さ測定結果 (nm)

	ブロックゲージ		ND フィルタ	
	Ra	Sa	Ra	Sa
白色干渉計	1.76	1.45	2.23	1.65
AFM	1.94	2.20	4.41	6.25
差	0.18	0.75	2.18	4.60

#### 5 まとめ

ISO25178 規格および JIS 規格に合わせた表面粗さ測定（線および面粗さ測定）の条件について、その妥当性に関する検証を行った。

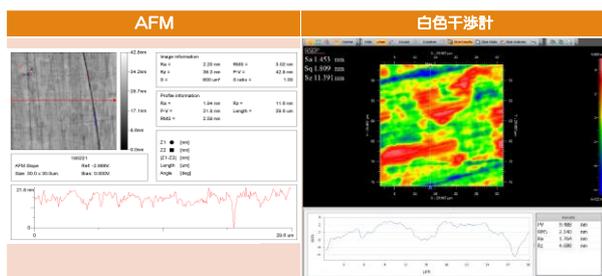
その結果、当センター所有の触針式粗さ測定機と光学式白色干渉計による測定値はほぼ同等であることを確認した。また、当センターの白色干渉計でも、ISO25178 の面粗さのフィルタ条件設定が妥当であることを確認した。さらに、AFM と白色干渉計の比較においては、測定箇所や温度などの外因の影響を受けて、0.1~数 nm の違いがあることを確認した。

以上より、本研究の実施によって、いまままで不明確であった線粗さと面粗さの相関や AFM 等の他測定機との測定値の差、面粗さ測定時のフィルタの条件設定方法が明確化され、最適化ができたといえる。

今後は、様々な工業製品の高機能化に伴い、表面機能も多様化してくることが予想される。このため、それに合わせて品質管理方法も高度化（線から面へ）していかなければならない。そのためにも、本研究で得られた知見を活かして、数値評価だけでは得ることのできない、表面形状の定量化手法を確立していく。

#### 文献

- 1) 佐藤敦：白色干渉計を利用した最新の表面形状評価技術、(2006) 8-12
- 2) 小野田有吾：走査型白色干渉顕微鏡“VS1000”シリーズによる先進材料の



(a) ブロックゲージ



(b) ND フィルタ

図 1 3 AFM と白色干渉計の線および面粗さの比較

表面形状・層断面計測、59、2、  
(2016) 5217-5226

# 共振点予測技術の構築

青柳 大志

Development of Prediction Method for Structural Resonance.

Hiroshi AOYAGI

構造物の固有振動数と加振振動数が一致すると共振が発生し、振動による破損や騒音の原因となる。予め共振を予測し開発の早い段階で設計に反映することができれば、品質保証段階での振動耐久試験時や市場でのトラブルを未然に防止することが期待できることから、共振点予測技術の構築を行った。

キーワード：共振、振動、固有振動数、実験モード解析、固有値解析、CAE

Structural resonance occurs when natural frequency of structure coincides with excitation frequency, which often causes failure and vibration noise. In this study we tried to predict resonance frequency and mode, to avoid such troubles in product development, especially in post-process and after sale.

Keywords : Resonance, Vibration, Natural frequency, Experimental modal analysis, Eigenvalue Analysis, CAE.

## 1 はじめに

構造物の共振はその固有振動数と加振振動数が一致するときに発生する。耐久試験や実稼働時に共振が生じると、大きな応力が繰り返し作用することで製品の破損や騒音の原因となる。著者は群馬産業技術センター（以下、センター）で振動試験を担当しており、多くの企業の製品が振動耐久試験で NG となる現場に立ち会った。その中の代表的な問題を以下に挙げると、

- ・ 振動に関する知見が少ないまま試験を実施した。
- ・ どこを改善すれば良いかわからない。
- ・ 治具と製品の共振が区別できない。

品質保証段階での振動試験も多く、製品仕様が

ほぼ固まっており、対策に当てる時間にも限りがある状況で実効力のある対策を打つのは容易でない。

これらの問題に対処するため、本研究では構造物の共振予測技術の構築を試みた。設計の自由度が高い開発の初期段階で共振を予測し、その対策を設計に反映することで問題の未然防止につながると期待できる。

## 2 手法

共振は構造物の固有振動数と加振振動数が一致するときに生じることから、固有振動数の予測を行う。固有振動数を含む構造物の動特性は実験モード解析で把握することができる。また、予測手法としては一般的に CAE の代表的

表 1 手法

	実験モード解析	CAE(理論モード解析)
特徴	打撃試験で動特性を把握することができる 固有振動数, 固有モード, モード減衰比	FEMで動特性を予測することができる 固有振動数, 固有モード
長所	容易・短時間で実施することができる	構造物全体の振動を可視化することができる
短所	信頼性が人の技量に依存する	モード減衰比は求められない

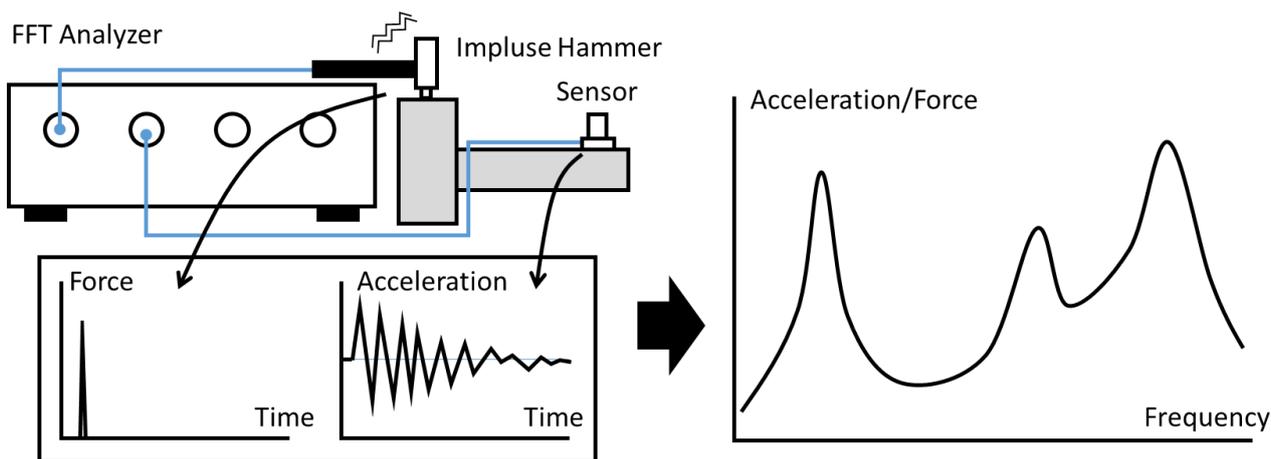


図1 実験モード解析

手法である有限要素法が用いられることから、本研究でも用いることとした（以下、CAE）。それぞれの特徴について表1に示す。実験モード解析はセンター所有の構造物振動解析システムを用いた（図1）。対象物に加速度センサを設置し、インパルスハンマにより加振する。加振力波形と加速度応答波形をFFTにより周波数領域に変換すると周波数応答関数が得られ、ここから動特性を抽出することができる。その信頼性は実施者のスキルに依存するため、事前に基礎データの収集・ノウハウの抽出を行った（紙面の都合上、詳細は省略）。一方、予測ツールとしては同じくセンター所有の汎用有限要素法解析ソフト ANSYS 18.1 を使用した。CAE ではモード減衰比が得られないが、共振予測に関しては固有振動数と固有モードが得られれば十分である。これらについて実験モード解析と比較することにより予測精度の向上を目指した。

### 3 予測

予測精度を確保するためには、CAE の条件（パラメータ）を実験のそれとできるだけ近づける必要がある。固有振動に関するパラメータは、例えば梁の曲げ固有振動に関する下式が示すとおり、質量と剛性である。

$$f = \frac{\lambda_n^2}{2\pi L^2} \sqrt{\frac{EI}{\rho A}} \propto \sqrt{\frac{\text{(剛性)}}{\text{(質量)}}}$$

これらはさらに密度（上式では  $\rho$ 、以下同様）、形状（梁の長さ  $L$ 、断面二次モーメント  $I$ 、断

面積  $A$ ）、弾性率（ヤング率  $E$ ）に分解できる。組立品の場合は部品間の接触状態に依存する接触剛性がこれに加わる。

以上を踏まえ、予測技術の構築を以下の2ステップで進めることとした。

- ① 単品部品の予測
- ② 組立品の予測

①では単品の質量と剛性のみ同定すれば予測精度を確保できる。続く②の段階では、実験値と予測値のずれ要因は接触剛性に特定できるため同定が進めやすい。なお、①の実験モード解析は無拘束状態で行うことが望ましい。これは対象物を定盤に置くなどした状態でハンマリングした場合、定盤との接触状態により固有振動が変化してしまうためである。本研究では金属や樹脂製品を対象とし、これらに対して十分に柔らかいゴムで吊った状態や、ウレタンスポンジ上に静置した状態で実施した。

## 4 事例

### 4.1 梁

実験モード解析の信頼性も含め、理論値が得られる梁の曲げ固有振動を取り上げる。梁の寸法は幅  $30 \times t6 \times 500$  である。両端フリーにおける固有振動数の理論値、実験値、予測値及びモード形状の比較を図2に示す。実験値と理論値がほぼ一致し、実験モード解析の信頼性は十分と判断できる。また、CAE の対実験値誤差は2%以内であった。加えて固有モードも三者で一致することから、十分な予測精度を持つと判断できる。

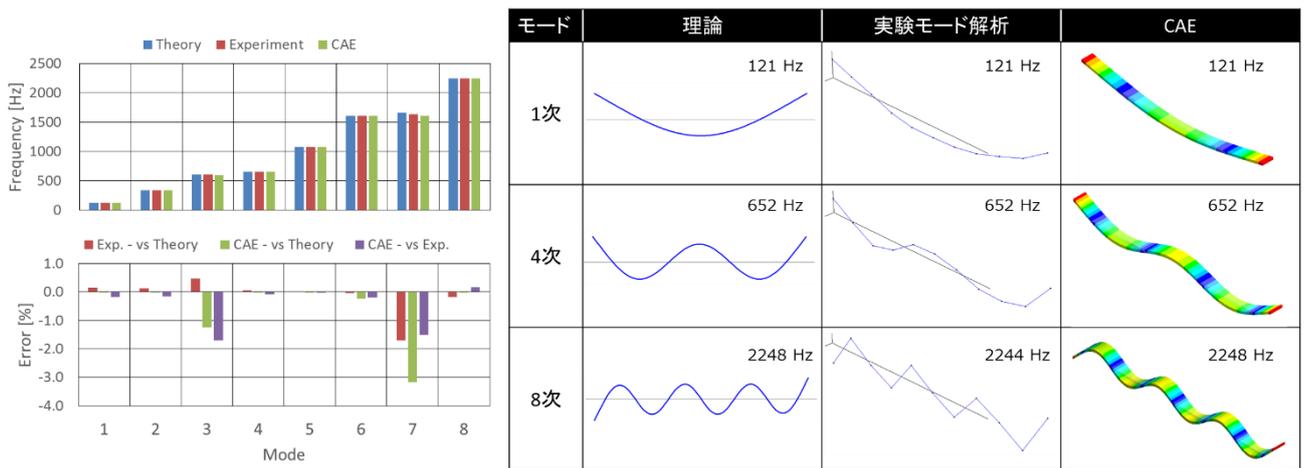


図2 梁の固有振動予測結果（左図上段：固有振動数、左図下段：予測誤差、右図：モード形状）

#### 4. 2 プレート+ブロック

ブロックはセンターの振動試験で使用している高周波数レンジ用の□200の治具である。プレートは100×200×t6で、中央にφ50穴が空いている。両者とも単品の固有振動数、固有モードは梁と同等の精度で予想可能だが、ここでは両者をM8ボルトで締結した状態（図3）について取り上げる。

接触面全面を完全固着状態にした場合、固有振動数を最大で20%過剰に予測する結果となっており、接触剛性が過剰であることに起因すると考えられる。すなわち、実際は全面固着状

態で接触しているのではなく、より狭い面積で接触していると考えられる。また、面積の縮小の程度はボルト締結軸力に依存すると考えられる（実際に実験してみると、ボルト締結トルクに依存して固有振動数が変化する）。今回は前者についてボルト座面の面積で接触していると仮定し、後者についてはバネ要素（仮想的なバネ、バネ定数でかたさを調整可能）によりモデル化することとした。接触面積縮小により接触剛性が過小となったが、これをバネ定数の調整により補うことで予測精度を確保することができた。今回はこのような簡易的な方法で

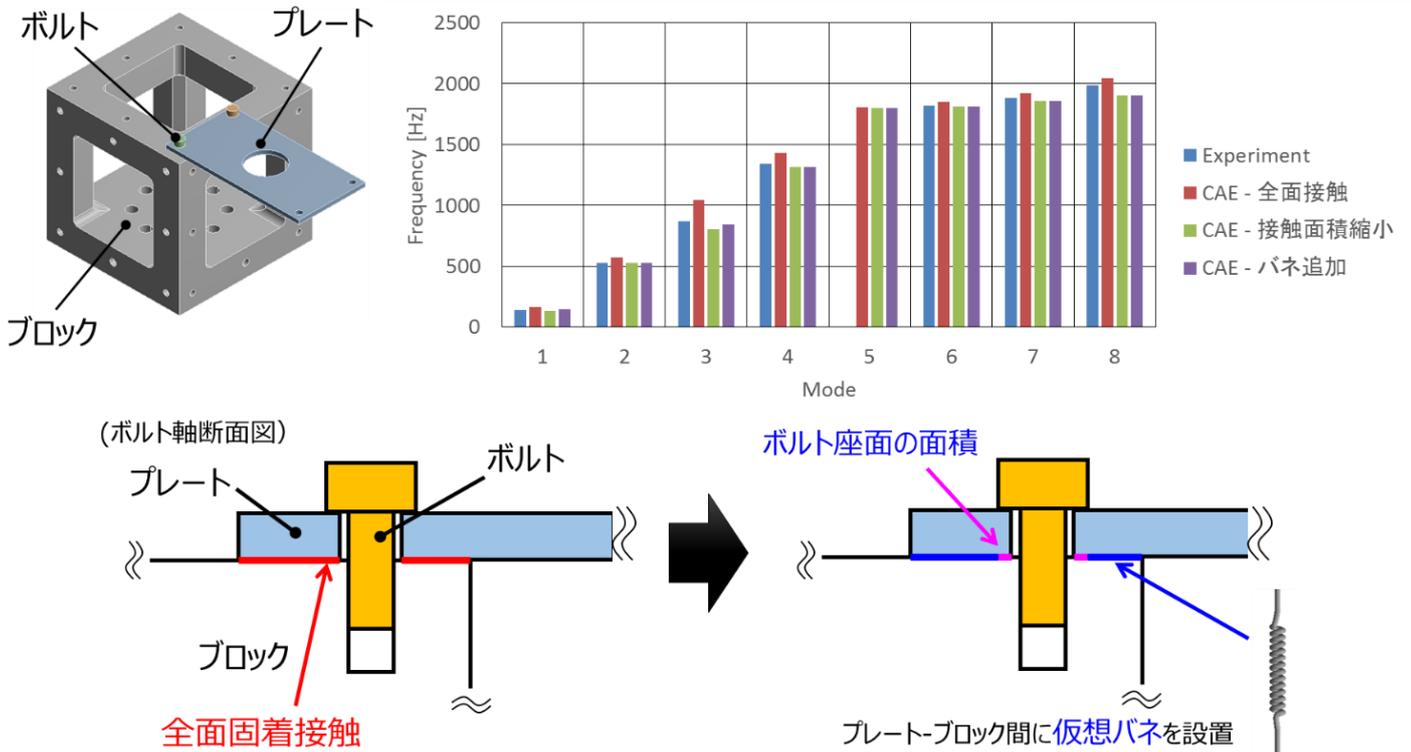


図3 プレート+ブロックの固有振動予測結果

（上段：形状及び固有振動数、下段：全面接触（左）と接触面積縮小及びバネ（右）

接触剛性を同定できたが、対象によってはボルト一本単位で接触剛性の調整が必要な場合も十分想定される。

#### 4. 3 自動車エンジン用バルブ

センターでは本研究に関連し、H29 年度に株式会社山田製作所と受託研究を実施した。対象は自動車エンジン用の冷却水制御バルブである(図4 上段)。材質は主に樹脂で、バルブ、シャフト、ハウジング、駆動用アクチュエータ等複数の部品から構成され、ボルトやネジにより締結される。エンジンの爆発による加振力の振動数が固有振動数と一致すると共振が生じる恐れがあることから、CAE による予測・可視化を行った。本報では機密上、具体的な数値を記載することはできないが、予測精度の検証結果を以下に示す。

各部品単位で質量と剛性を同定した後、組付状態で実施した結果を図4 中段に示す。プレート+ブロックの場合と同様に、全接触部を完全固着とした場合、固有振動数を過剰に予測してしまう。本製品ではボルト締結部の接触面積がボス(図中非表示)で限定されていることから、ボルト締結面で微小な滑りが発生していると考え、他の部位も合わせて反映したのが”滑り接触”と表記した結果である。それでもまだ固有振動数が過剰なため、さらにバルブ及びシャフトを質点化することにより、シャフト嵌め合い部の接触剛性を低下させたのが”バルブ質点化”である。その結果、予測誤差を10%以内に低減することができた。ここでは掲載していないが、固有モードについても実測値とCAEで良好な一致が見られた。以上の検討により、複雑な製品においても本研究で構築した技術の有効性を確認できた。今後も事例を増やし、さらに技術を向上していく予定である。

#### 5 まとめ

最後に、本研究の成果についてまとめる。

- 固有振動数を±10%以内で予測可能な技術を構築できた。
- 振動試験や実稼動の前に共振を予測し、事前に対策を打つことができる。
- 同試験などで破損した場合に、原因や対策を導出する手がかりを導出できる。

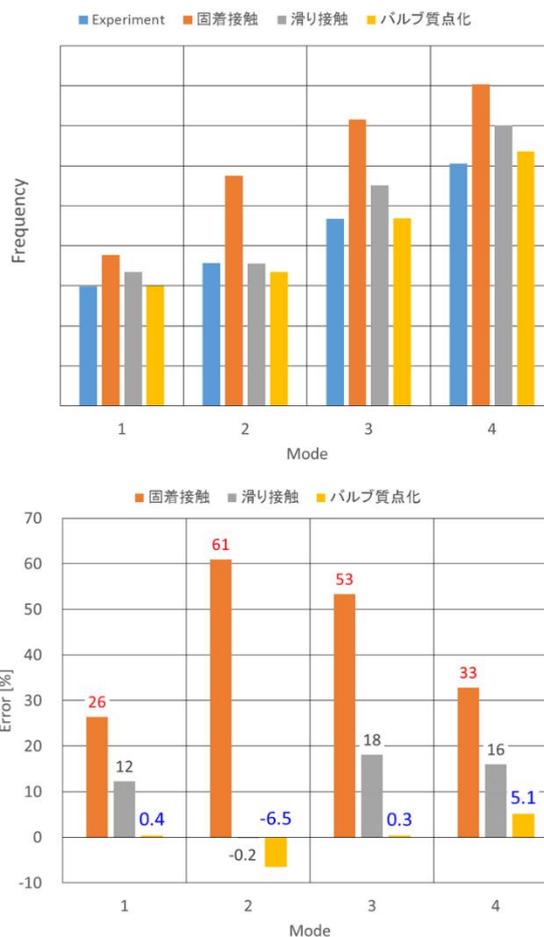
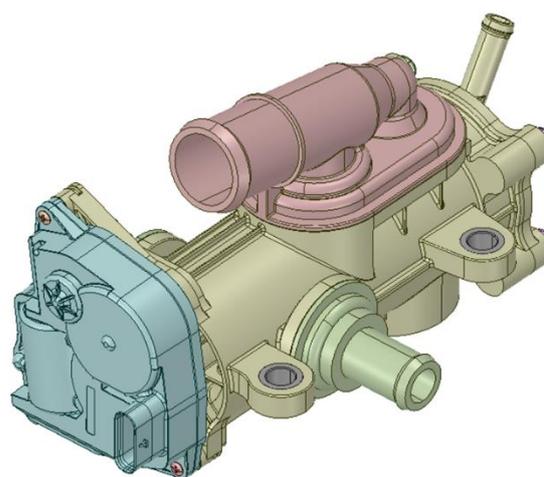


図4 バルブの予測結果

上段：バルブ全体形状

中段：固有振動数予測結果

下段：同対実測誤差

- 既存製品や機械設備に対して、実験モード解析による動特性の把握が可能である。また、加工機や精密測定機など、振動ノイズが問題になりうる機械・装置に対して、設置状態の診断や改善への応用を検討中である。

# シリコーンゴムによる積層造形物の造形特性に関する研究

狩野幹大・岩沢知幸\*

Research of the various modeling properties of laminated modeling by silicone rubber

Motohiro KANO, Tomoyuki IWASAWA

近年、3Dプリンタを利用した試作に対するニーズが多様化しており、従来のモデル材とは異なる性質を持つ多種多様な造形材料の研究開発が進められている。当センターでも新たに軟質のシリコーンゴム材料を利用した造形が可能となったことから、この材料についての機械的性質や造形精度及び積層方向が及ぼす影響について検証を行った。

キーワード：3Dプリンタ、シリコーンゴム

In recent years, the needs for trial production using 3D printers have diversified, and research and development of a wide variety of modeling materials with properties different from conventional model materials have been proceeded. Since we can also perform the 3D printer modeling using a soft silicone rubber material. In this study, we investigated the mechanical properties, modeling accuracy, and the effect of the laminating direction for the silicone rubber material.

Keywords : 3D printer, silicone material

## 1 はじめに

3Dプリンタは3D-CADソフト等で作成した3Dモデルデータを入力することで、立体形状を直接造形することが可能な装置である。製品の試作において機械加工や金型などを用いる従来の手法と比較した場合、短納期かつ低コストでの試作が可能であり、複雑な形状でも簡単にモデルを得ることが出来る優位性から、近年では製造業を中心に利用が進んでいる。

3Dプリンタには熱溶解積層法(FDM)をはじめとして数種類の方式が存在し、それぞれ造形精度やコスト、材料の特性が異なるが、FDMと並んで普及が進んでいるのがインクジェット方式の3Dプリンタである。インクジェット方式は高精度な造形を特徴とし、一般的に紫外線硬化性のアクリル系樹脂を材料として用いる。また、近年では新たな性質をもつ材料の開発が進められており、ABSライク、PPライク、ゴムライクなど性質の異なる材料での造形に対応可能な3Dプリンタも普及しつつある。当センターでもシリコーンゴム材料による造形

に対応可能となったことから、今後この新たな材料を活用し、技術的な支援を行うことが望まれる。

3Dプリンタによる造形物は一般的に、その造形方向により物性や造形精度に影響が出ることが知られており、造形を行う際には造形物の強度や形状について留意しなければならない。シリコーンゴム材料についても同様の現象が現れることが予測されるが、現状、機械的物性については明らかになっていない部分が多く、有効活用していく上では、材料の性質やノウハウを蓄積することが重要となる。そこで、本研究ではシリコーンゴム材料で造形した試験片による引張試験や微細形状の造形による造形精度の検証を行うことで、シリコーンゴム材料の造形特性を明らかにする取り組みを行った。

## 2 方法

### 2.1 積層造形

本研究で用いる検証用のモデルはインクジ

ジェット方式の 3D プリンタを用いて造形を行う。硬度の異なる 2 種類のシリコーンゴム材料（低硬度（硬度 35）と高硬度（硬度 65））それぞれで造形し比較を行う。高さ方向の積層ピッチは 30 $\mu\text{m}$  となっている。

## 2. 2 引張試験

本研究ではシリコーンゴム材料で引張試験片を造形し、引張強さと伸びの評価を行った。

試験条件は JIS K 6251 に基づき、試験片形状は JIS K 6251 ダンベル状 3 号形、引張速度 500mm/min、試験片数は各条件 3 個とした。試験片の形状と各部の寸法を図 1 に示す。また、積層方向の影響について検証を行うため、図 2 に示すように、試験片の長手方向とインクジェットヘッドの走査方向が一致する状態を 0°（水平）と定義し、試験片の長手方向とテーブルとの角度を 15°刻みで変化させ、90°（垂直）までの 7 種類の姿勢で試験片の造形を行った。

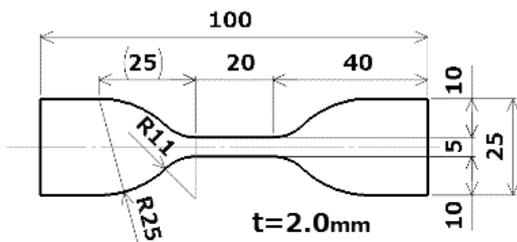


図 1 引張試験片  
(JIS K 6251 ダンベル状 3 号)

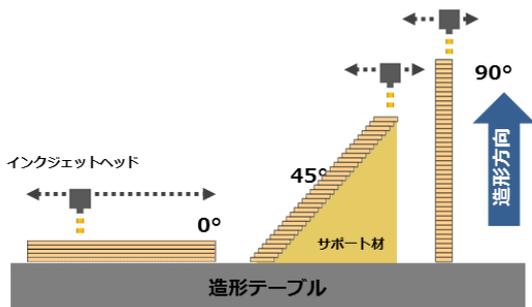
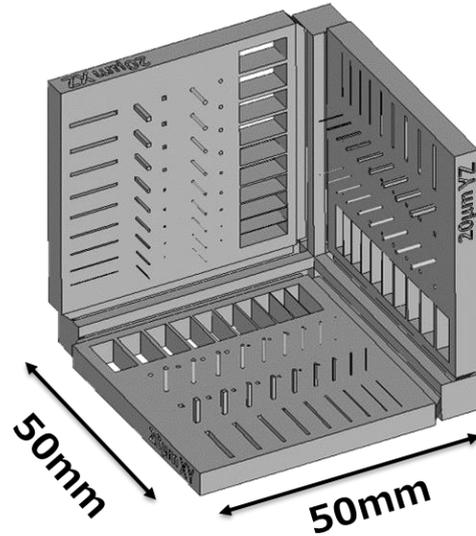


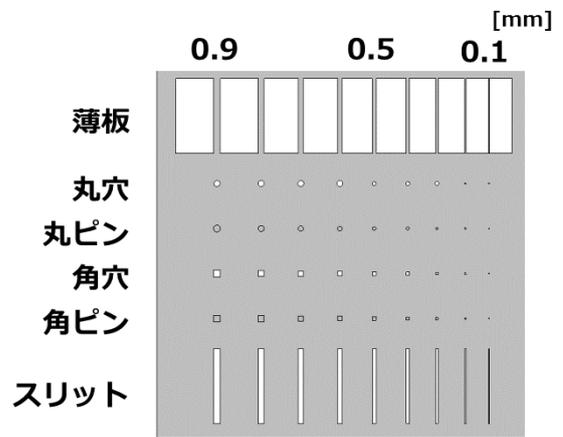
図 2 積層方向

同一の形状を XY,ZX,YZ の 3 平面で造形することで、造形方向が及ぼす影響について比較が可能なモデルとなっている。

造形後、マイクروسコープによる観察を行い、微細形状の造形の可否および、シリコーンゴムの硬度や造形方向が及ぼす影響について検証を行った。



(a) 全体図



(b) 平面

図 3 造形精度検証用モデル

## 2. 3 造形精度検証

シリコーンゴム材料で造形した際の微細形状の造形精度を検証するため、図 3 のようなモデルの造形を行った。このモデルは 0.1mm から 0.9mm まで 0.1mm 刻みで丸穴、角穴、丸ピン、角ピン、スリット形状、薄板形状を有し、その造形の可否を検証するためのモデルである。

## 3 結果

### 3. 1 引張試験

引張試験から得られた応力と伸びの関係は図 4 に示す。また、積層方向と引張強さおよび伸びの関係をそれぞれ図 5 と図 6 に示す。

高硬度材は引張強さ、低硬度材は伸びに

ついて高い数値を示したが、従来のモデル材と同様、積層方向の角度が大きくなるにつれ、引張強さや伸びが低下する傾向にあることが明らかになった。

0°と90°の試験片の結果を比較すると、低硬度材では引張強さと伸びがそれぞれ54%と12%低下。高硬度材でも引張強さと伸びがそれぞれ9%と34%低下した。このことから、積層方向によるシリコンゴム材料への影響は低硬度材の引張強さと高硬度材の伸びに対して特に大きいことが確認された。

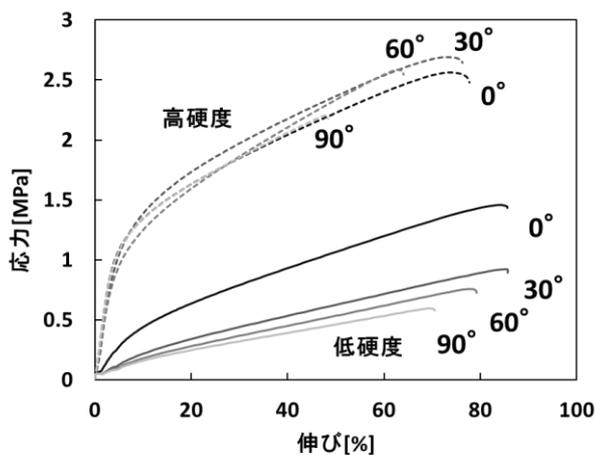


図4 各積層方向における応力と伸び

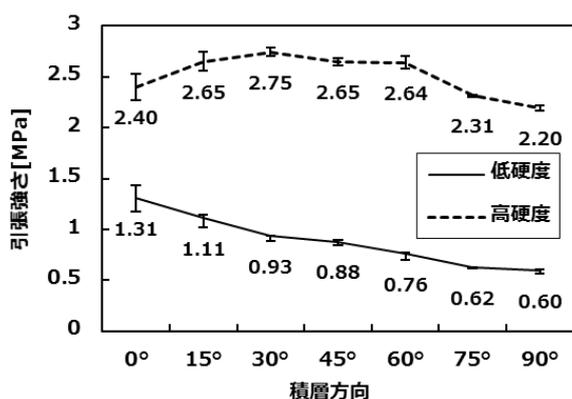


図5 積層方向と引張強さの関係

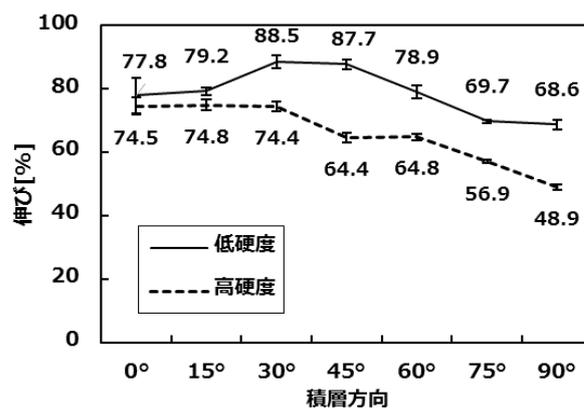


図6 積層方向と伸びの関係

### 3. 2 造形精度確認

低硬度材、高硬度材の2種類の材料で評価用のモデルを造形し、各形状をマイクロスコープで撮影したものを図7に示す。この結果から全体的には材料の硬度や積層方向によって若干の差はあるものの、概ね0.4~0.6mmよりも細かい形状については造形が難しくなることがわかる。

穴形状では角穴についても丸みを帯びており、特にXY方向において顕著であることが確認できる。

薄板形状は寸法が小さくなるにつれ、ねじれが発生し、0.2mm以下では全く形状が再現できない条件も確認された。

また、スリット形状では、穴形状よりも面積が大きい分、細かい形状でも再現されているが、0.4~0.5mm程度までとなっている。

そして、ピン形状については造形が可能なのはおよそφ0.5mmまでであるが、通常モデル材よりも柔軟な性質から、細くなるにつれて形状を保持できず変形してしまうことが確認できた。

以上のことから、微細形状については造形ができて、強度が不十分で破損してしまう恐れがあると推察されるため、シリコンゴム材料で微細形状の造形を行う際には形状や強度を十分に考慮する必要がある。

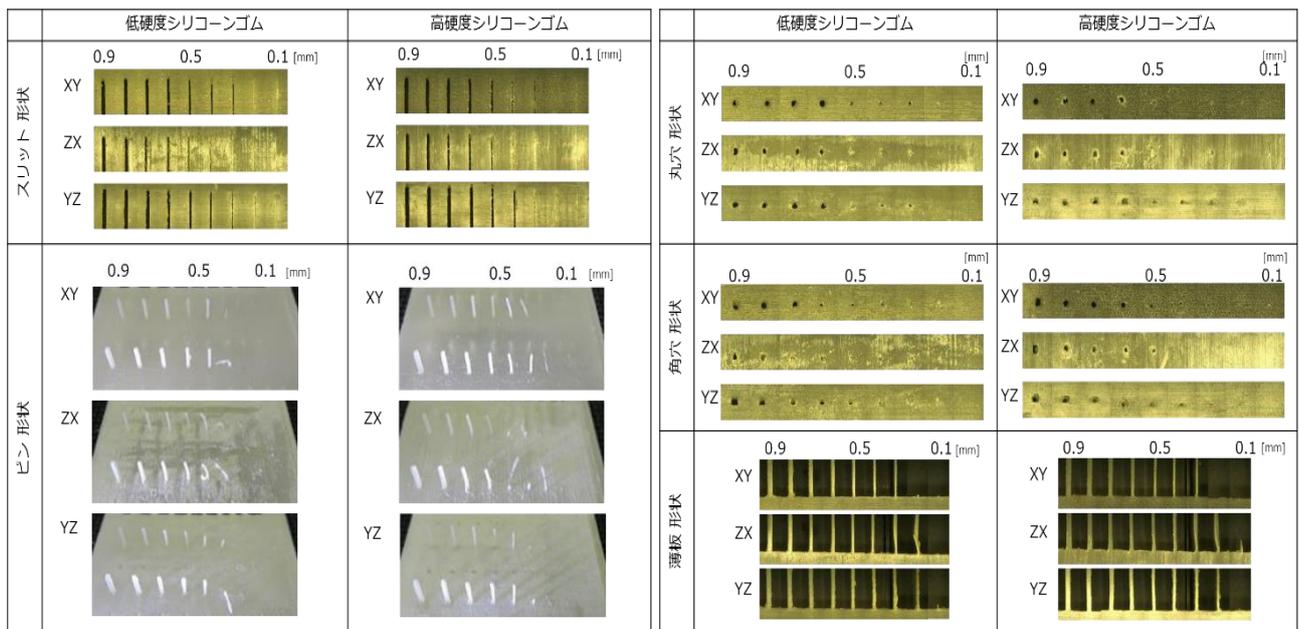


図7 マイクロスコープによる観察結果

#### 4 まとめ

本研究では、3Dプリンタ用シリコンゴム材料の造形特性を明らかにするため、硬度の異なる2種類のシリコンゴム材料を用いて、引張試験片と造形精度評価用のモデルを造形し、造形精度及び強度特性の評価を行った。

その結果、以下のことが明らかになった。

(1) 標準のモデル材と同様、シリコンゴムのモデル材についても積層方向と強度に相関性が存在し、積層方向が90°に近づくにつれ強度の特性が低下する。

(2) 低硬度シリコンゴムでは引張強さ、高硬度シリコンゴムでは伸びの値が積層方向による影響を大きく受けやすい。積層方向0°と90°の結果を比較した場合、低硬度材の引張強さは最大54%、高硬度材の伸びでは最大34%の低下が確認された。

(3) 微細形状の造形物について検証を行ったところ、各形状ともおよそ0.5mmよりも細かい形状は造形が困難であることが分かった。また、低硬度と高硬度による明確な差は確認できなかった。

# 摩擦摩耗試験における摩擦係数測定精度の向上に関わる取組

小和瀬登・荻野直彦・岩沢知幸

The attempt to concern an improvement of friction coefficient measurement accuracy in friction and wear testing

Noboru KOWASE, Naohiko OGINO, Tomoyuki IWASAWA

機械システムの損傷は、しばしばトライボロジー（摩擦）が要因になっており、材料表面の摩擦力を評価するために、いくつかの方法で摩擦係数の測定が試みられている。

本研究では、摩擦係数の精度の高い測定手法の確立を目的として、リングオンディスク試験機の改造及びアルミニウム合金材のリングオンディスク試験による摩擦力の測定を行い、測定精度について評価を行った。

キーワード：トライボロジー、摩擦係数、摩擦摩耗試験、リングオンディスク

In the case of mechanical system damage, tribology (friction) of material surface often becomes a damage factor, and the measurement of friction coefficient has been attempted in several ways in order to evaluate frictional force of material surface.

In this study, we adapted the ring-on-disk testing machine for measurement with accuracy and measured frictional force of aluminum alloy material by the ring-on-disk test for the purpose of establishing friction coefficient measurement method with accuracy, and also evaluated the measurement accuracy.

Keywords: tribology, friction coefficient, friction and wear testing machine, ring-on-disk

## 1 はじめに

### 1.1 背景

今日、機械システムで発生する故障の原因はトライボロジー（摩擦）に関連するものが大半を占めるとも言われている。このことからトライボロジー技術は機械システムの信頼性や性能の向上など、製品の競争力強化に資するひとつのコア技術として、それに関する試験のニーズも高まっている。摩擦摩耗試験には往復摺動試験、回転摺動試験（リングオンディスク試験、ピンオンリング試験）などがあり、特に回転摺動式試験では高速、高荷重の試験に対応でき、実環境に近い評価が行える。

一般的に、摩擦摩耗試験は他の材料試験と異なり、同じ材料でも試験片形状・試験方式・雰囲気条件などが異なると全く異なる

った特性値が得られることが多い。したがって、摩擦・摩耗のデータ採取に当たっては対象とする実際の現象の分析把握、精度の高い試験データ測定をすることが不可欠となる。そのため企業等からはより実環境に近いリングオンディスク試験の要望が多い。

### 1.2 課題

当センターの保有している回転摺動型摩擦摩耗試験機はリングオンディスク試験では構造上の問題から精度の高いトルク測定ができておらず、摩擦係数の信頼性ある解析ができないという問題を抱えている。

当試験機の試験台を図1、駆動軸部を図2に示す。当試験機によるピンオンディスク試験は図1の接触子側ロードセル及び図2の駆動軸側トルクメータより摩擦抵抗力によるトルクを測定できる。しかしながら、当装置によるピンオンディスク試験の結果

例を図3に示すとおり、駆動軸側トルクメータによる結果は接触子側ロードセルに比べ値の振れ幅が大きくなっている。これは当トルクメータが電動機とディスク回転軸の間にベルト連結された位置にあるため機械ロスや振動といったノイズが測定結果に含まれることが原因であり、測定精度が悪くなると考えられている。現状、当試験機によるリングオンディスク試験は当トルクメータによる測定しかできない仕様になっているため、需要の多いリングオンディスク試験においても接触子側にセンサを設け、トルク測定精度向上させることを課題とする。部分破壊法と完全破壊法は両者とも材料除去により解放されるひずみの測定に依存している。



図1 試験台（囲み部：ロードセル）



図2 駆動軸部（囲み部：トルクメータ）

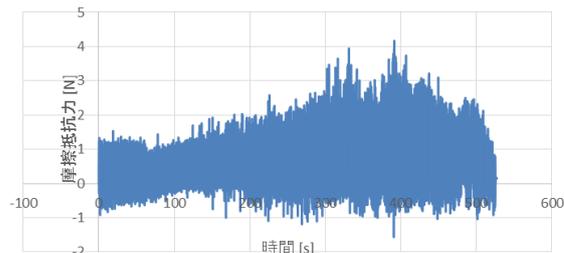
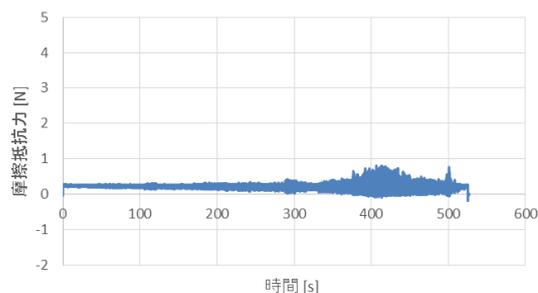


図3 ピンオンディスク試験結果例  
（上：接触子側ロードセル値  
下：駆動軸側トルクメータ値）

## 2 試験方法

### 2.1 リングオンディスク試験の精度検証方法

試験機の接触子側に新たにロードセルを新設してリングオンディスク試験を行い、新設のロードセルと既設の駆動軸側トルクメータによるトルクの同時測定をして互いの結果を比較することで測定精度を検証する。

### 2.2 試験装置及び改造

回転摺動型摩擦摩耗試験機は新東化学(株)製トライボギア HEIDON-20を使用する。

また、今回当試験機に新設したロードセル及び架台の設置状況を図4に示す。ディスクの回転により接触子側に同回転方向に摩擦力が加わると接触子側の軸も回転し、その回転軸に接続したアームとロードセルが接触する。その際、ロードセルの接触点は回転軸から100mm離れた位置にあるため、得られた荷重値からトルクに換算することができる。なお、新設ロードセルの仕様は最大荷重20N、日本特殊測器(株)製とした。

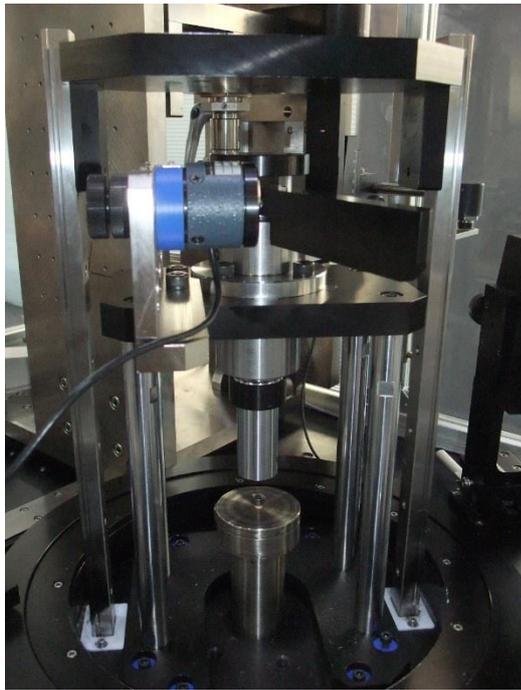


図4 新設ロードセル及び架台の設置状況

### 2. 3 試験片

今回使用した試験片の材料を図5に示す。リングはすべてアルミニウム合金 A4032 を使用、ディスクについて基材はリングと同じ A4032 だが表面処理の異なる 4 種を用意した。左からカニフロンメッキ、ニッケルリン(Ni-P)メッキ、無電解すず(Sn)メッキ、無垢材であり、無垢材はリングと同材面の試験となる。

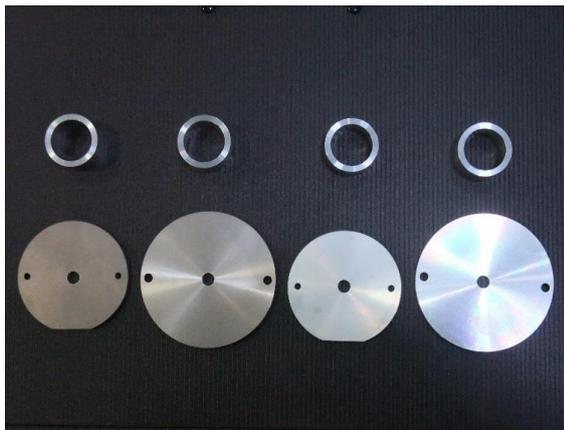


図5 試験片(上：リング 下：ディスク)

### 2. 4 試験条件

各種リングオンディスク試験における垂直荷重は 100N、回転速度は 300rpm、試験時間は 3 分間とし計 900 回転とした。潤滑

条件は各種ドライで行い、さらにカニフロンディスクのみ潤滑油使用の試験を行った。

## 3 結果および考察

### 3. 1 A4032－無垢ディスク（ドライ）

試験結果のグラフを図6-1、6-2に示す。全体的に既設トルクメータ、新設ロードセルの値の挙動は同じであるが、値の振れ幅は新設ロードセルの方が明らかに小さくなっている。また、絶対値は全体的に新設ロードセルの方が小さい。

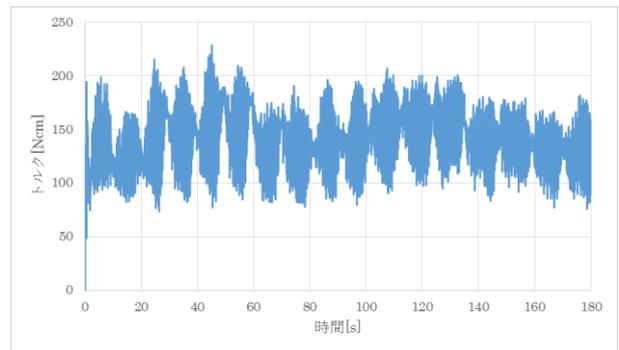


図6-1 A4032－無垢ディスク  
(既設トルクメータ)

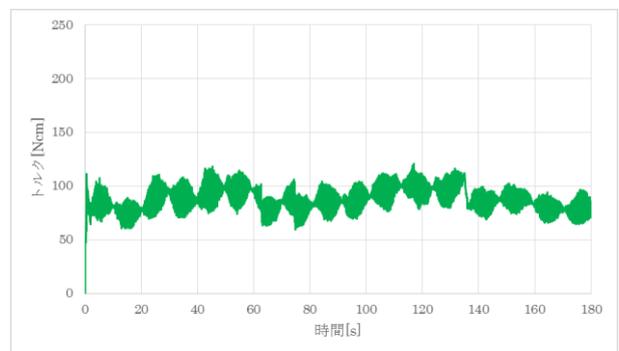


図6-2 A4032－無垢ディスク  
(新設ロードセル)

### 3. 2 A4032－無電解 Sn（ドライ）

試験結果のグラフを図7-1、7-2に示す。ディスクに表面処理があるため値の振れ幅は既設トルクメータ、新設ロードセル共に無垢ディスクの結果と比べ小さくなっているが、それでも新設ロードセルの値の方が明らかに小さい。挙動、絶対値の傾向については無垢ディスクと同様といえる。

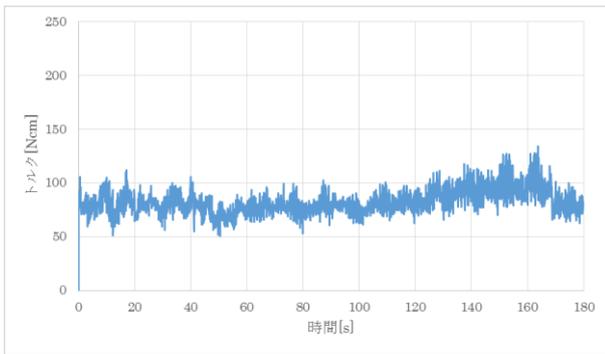


図 7-1 A4032-無電解 Sn  
(既設トルクメータ)

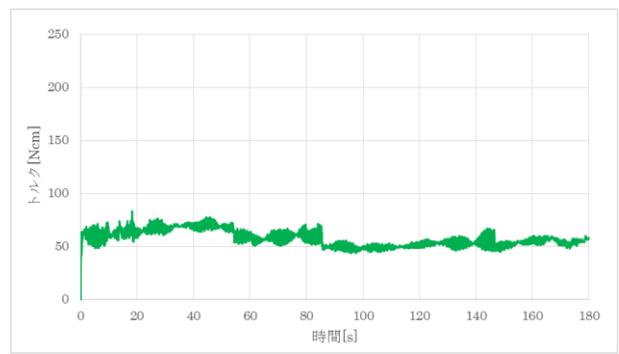


図 8-2 A4032-NiP  
(新設ロードセル)

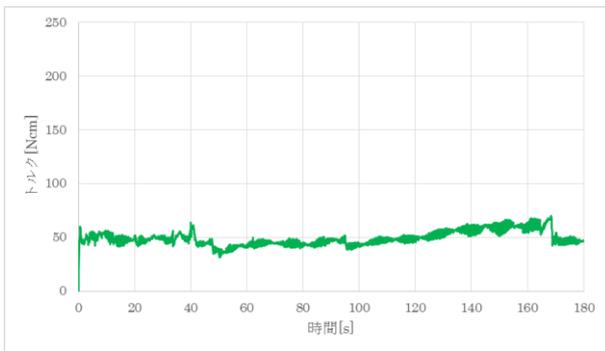


図 7-2 A4032-無電解 Sn  
(新設ロードセル)

### 3.3 A4032-NiP (ドライ)

試験結果のグラフを図 8-1、8-2 に示す。挙動、値の振れ幅、絶対値の傾向は前結果と同様といえる。

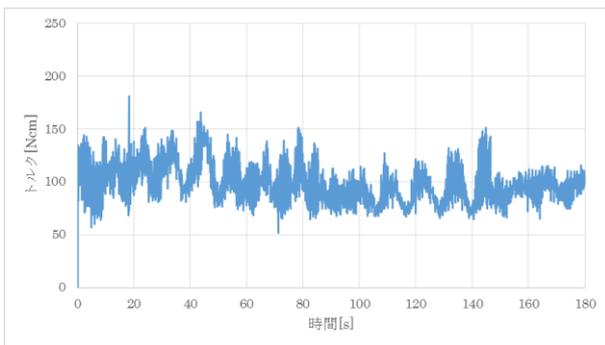


図 8-1 A4032-NiP  
(既設トルクメータ)

### 3.4 A4032-カニフロン (ドライ)

試験結果のグラフを図 9-1、9-2 に示す。挙動、値の振れ幅、絶対値の傾向は前結果と同様といえる。

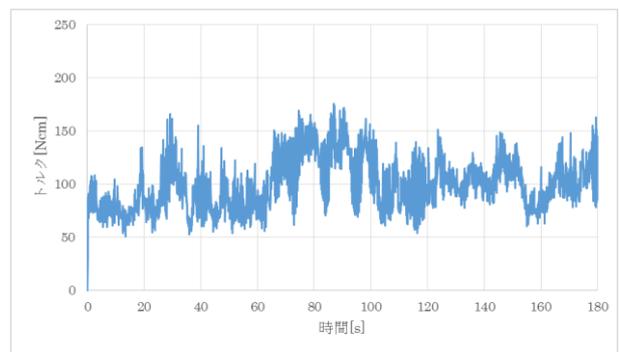


図 9-1 A4032-カニフロン  
(既設トルクメータ)

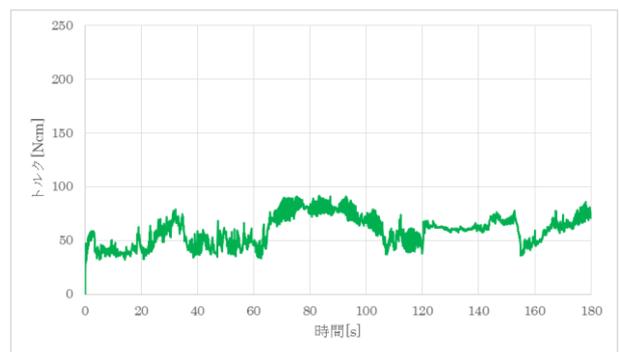


図 9-2 A4032-カニフロン  
(新設ロードセル)

### 3.5 A4032-カニフロン (潤滑油)

試験結果のグラフを図 10-1、10-2 に示す。潤滑油を使用しているため全体的に絶対値が低めとなったが、挙動、値の振れ幅、絶対値の傾向はドライ試験の結果と同様といえる。

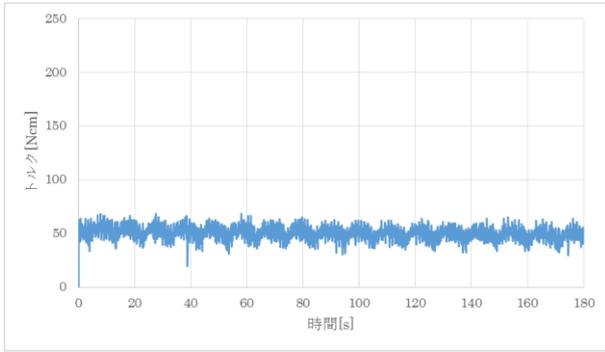


図 10-1 A4032-カニフロン（既設トルクメータ）潤滑油仕様

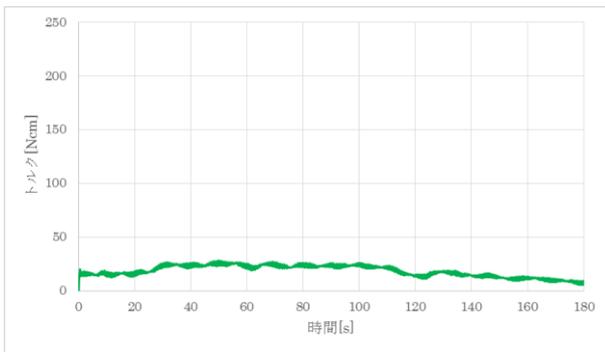


図 10-2 A4032-カニフロン（新設ロードセル）潤滑油仕様

#### 4 まとめ

リングオンディスク試験において今回の試験機改造により接触子側のロードセルにて得られるトルク値は既設ロードセルの値と比べ大幅に値の振れ幅を抑えられたため、複数種の比較検証を目的とする試験については有効であると言える。しかし、測定値そのものの精度が良くなったかどうかはわからなかったため、真の精度を検証するには、文献等にあるリングオンディスク試験の事例と同条件の試験を実施し同様に結果が得られるか検証する試験や、接触子側にトルク（ねじれ）専用のセンサを使用した試験値と今回の新設ロードセルでの試験値と比較して検証することが必要と思われる。さらに、今回以上に高負荷、高速回転、潤滑油使用をメインとした長時間測定の試験を行うことが様々なニーズに応える試験の精度検証に繋がると思われる。

# 引張試験における画像処理を用いたひずみ測定手法の開発

新井宏章・荻野直彦\*・岩沢知幸\*・鍋木哲志\*\*

Development of Strain Measurement Method using Image Processing in a Tensile Test  
Hiroaki ARAI, Naohiko OGINO, Tomoyuki IWASAWA, Tetsushi KABURAGI

本研究では、引張試験における画像処理を用いたひずみを測定する手法を開発した。具体的には、安価な高速度カメラと汎用的な画像処理システムを用い、治具の固定方法、レンズ校正及び位置の検出アルゴリズムの検討を行った。その結果、0.2%以上の伸びであれば従来装置と同等精度で測定でき、低価格なひずみ測定システムを開発できた。

キーワード：引張試験、ビデオ伸び計、高速度カメラ、画像処理

In this study, we developed a method to measure strain using image processing in tensile test. Specifically, using an inexpensive high-speed camera and a general-purpose image processing system, a method of fixing the jig, Lens calibration and position detection algorithm were studied. As a result, if the elongation is 0.2% or more, it can be measured with the same precision as the conventional device, and a low cost strain measurement system could be developed.

Keywords : Tensile Test, Non-Contacting Video Extensometer, High-Speed Camera, Image Processing

## 1 まえがき

製品や部品の設計者は、カタログに記載されている物性値を用いて材料を選定する。しかし、実際に入手した材料は製造時のバラツキをもち、カタログ通りの数字を満足しているとは限らない。そのため、材料に荷重を加え変形量を測定することにより、変形のしにくさや壊れにくさを測定する。この測定装置を万能試験機と呼び、試験片に引張・圧縮荷重を加えることで、弾性係数や引張強さ・圧縮強さなどの物性値を取得できる。試験を行う際には、試験片を装置の上下方向の治具で固定する必要がある。簡易的な測定であれば、固定治具の変位量を試験片の変位量として物性値を求めても良い。しかし、試験片と固定治具の面がすべったり、試験片が不均一な分布で伸縮する場合、装置の変位量を用いて算出する物性値は真の値と大きく異なってしまう。従って、より正確な物性値が求められる為には、試験片にポンチやけがき線などのマーキングした2点間の距離（標点間距離）の計

測し、変位量を求めることが不可欠である。

標点間距離を計測する方法の一つにビデオ伸び計を用いた手法がある。ビデオ伸び計とは、ビデオカメラを用いて試験片を撮影し、映像から標点位置を検出することで標点間の伸びを測定する装置である。このビデオ伸び計を用いた測定手法の長所は設置が容易であること、非接触であるため試験片に影響を与えないこと及び機構が単純であることが挙げられる。しかしながら、装置に付属するビデオ伸び計は高価であるとともに、その装置でしか変位量を計測することができない。

そこで本研究では、安価な高速度カメラと画像処理技術を用いて、センターが所有している従来のビデオ伸び計と同等以上の精度で測定が可能なシステムの開発を目標とする。

## 2 実験方法

### 2.1 万能試験機

本研究では、引張荷重に対する変位量につい

て検討する。引張試験で使用する機器は当センターが保有する図1に示すインストロン社製万能試験機（型式5582）で、荷重容量は100kNである。



図1 万能試験機の外観

## 2.2 試験片

本研究では JIS Z2241 に規定される 13A号を使用し、材質は SPCC を用いた。

## 2.3 評価方法

伸びの測定には、開発した高速度カメラを用いたビデオ伸び計（以下、開発システム）とインストロン社製ビデオ伸び計（以下、従来システム）を用いる。従来システムを用いた測定と同時に、開発システムの高速度カメラ（IDS社製 UI-3180CP-C-HQ Rev.2）で画像を取得し、その画像から標点間距離の測定を行った。評価に用いたシステムの構成を図2に示す。

開発システムでは標点間距離の測定に、画像処理ソフトウェア（Future Processing社製 Adaptive Vision Studio）により作成したプログラムを用い、従来システムはインストロン社製のソフトウェアを用いた。

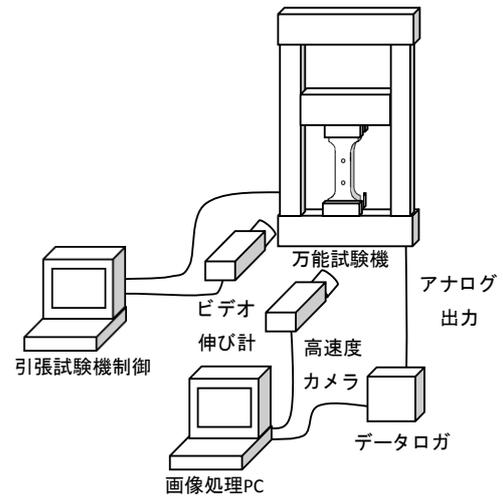


図2 開発したビデオ伸び計の評価システム

## 2.4 試験片固定治具

試験片を固定するためのチャックを万能試験機のクロスヘッドに固定する治具は自在継手と固定軸継手の2種類ある（図4参照）。

一般的に、比較的柔らかい材料には自在継手を用い、異方性を持つ材料や硬い材料には固定軸継手を用いることが多い。

この2種類のチャック固定治具を用いて、引張試験を行い、その差異を評価する。

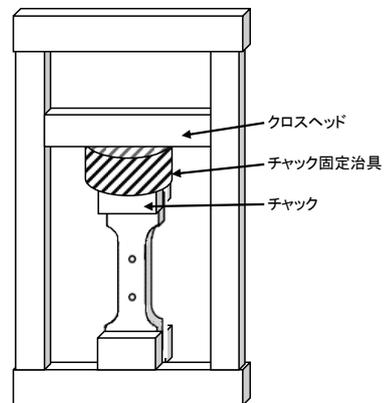


図3 チャック固定治具の位置



(a) 自在継手 (b) 固定軸継手

図4 チャック固定治具

## 2. 5 レンズの歪み校正

開発システムにおいて、カメラ画像の端に生じる歪みを低減するため、図5に示すドットパターンキャリブレーションプレートを用いて、レンズの歪み校正を行う。校正前と校正後の応力-ひずみ線図を比較し、その差異を評価する。



図5 キャリブレーションプレート

## 2. 6 サブピクセル処理

開発システムにおいて、より高精度な標点の検出を行うため、サブピクセル処理を行う。

サブピクセル処理とは、物体同士の境界を近傍画素の濃度情報により画素分解能(1画素で表現する実サイズ)以下の精度で認識するアルゴリズムである。

弾性域における応力-ひずみ線図をサブピクセル処理を行った場合と行わなかった場合で比較し、その影響を検討する。

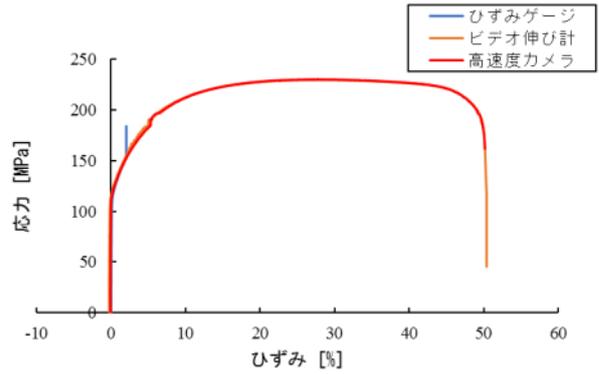
## 3 実験結果

### 3. 1 試験片固定治具

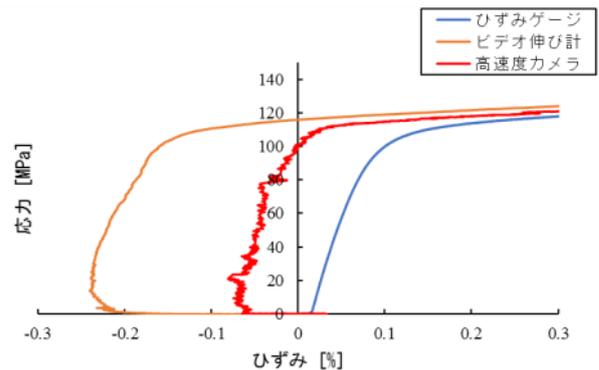
図2の評価システムに試験片を固定する治具の影響について自在継手と固定軸継手を用いて引張試験を行った。その結果を図6、図7に示す。

図6では、自在継手治具では測定開始直後、従来システム及び開発システムでのひずみが圧縮(負)方向になった。一方で、図7では固定軸継手治具では圧縮にはならなかった。

自在継手治具の場合、可動部分の隙間により

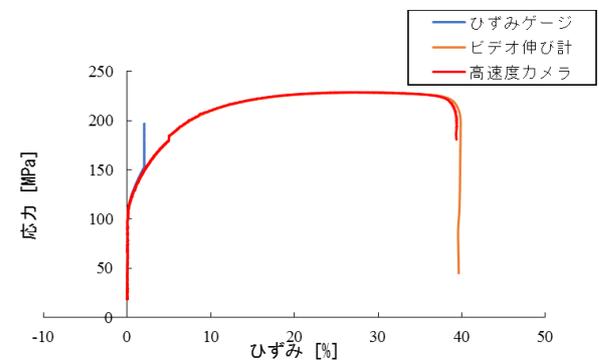


(a) 応力-ひずみ線図

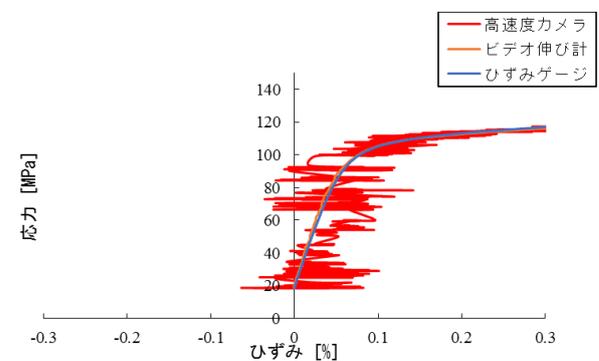


(b) 弾性域における応力-ひずみ線図

図6 自在継手治具を用いた引張試験



(a) 応力-ひずみ線図



(b) 弾性域における応力-ひずみ線図

図7 固定軸継手治具を用いた引張試験

試験片が曲がった状態でセットされ、装置の引張方向と平行にならない。試験が開始し平行になるまで、その隙間には治具の重さ分の下方方向に荷重が加わるため試験片に圧縮荷重が加わり、負の方向に標点間が移動してしまうと考えられる。固定軸継手治具の場合には、隙間がないため、装置からの変位が直接試験片に伝わることで引張方向の荷重が加わると考えられる。

このようにビデオ伸び計を用いた伸び量の測定の場合、固定軸継手のチャック固定治具を用いることが望ましい。

従来システムと高速度カメラを用いた開発システムの比較をすると、開発システムは図7(b)のようにひずみの値(変位)の測定値が大きく振れてしまうことが分かった。この振れの原因については3.3 サブピクセル処理で述べる。

### 3.2 レンズの歪み校正

図2の評価システムに固定軸継手治具を用いて、引張試験を行い、レンズの歪みの校正について検討した。その結果を図8に示す。試験片が大きく伸びたとき、カメラの端に標点が映る。そのため、レンズの歪み校正は試験片が破断するときの測定結果に影響を与える。レンズの校正を行った結果、伸びが0.48 mm小さくなり、ひずみの測定精度が0.6%向上した。

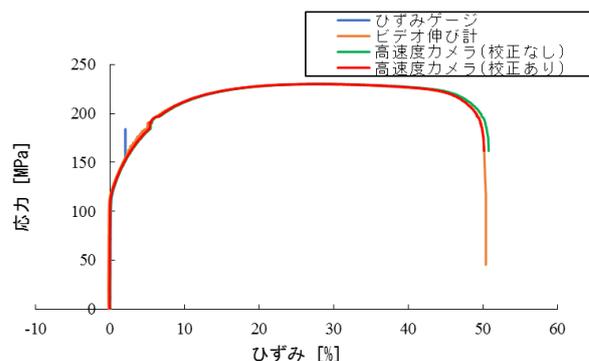
### 3.3 サブピクセル処理

サブピクセル処理をすると精度が向上すると考えられるため、3.1のチャック固定治具の検討と3.2のレンズの歪み校正の検討では、サブピクセル処理を用いた測定を行った。3.1の結果より、開発システムでは、弾性域のひずみの値が大きく振れていることが分かった。

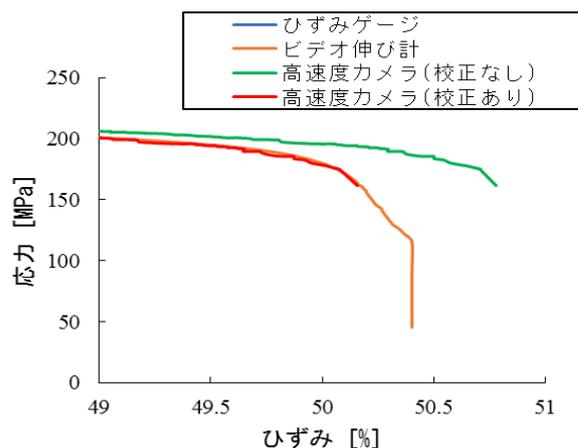
微小な変位量を画像から検出し求める場合、その処理方法が結果に大きく影響すると考えられるため、サブピクセル処理の有無についての検討を行った。その結果を図9、図10に示す。

図9と図10を比較するとサブピクセル処理を行わなかったとき、測定値の振れが低減していることが分かる。

今回開発システムに用いた画像処理ソフトウェア(Future Processing社製 Adaptive Vision Studio)のサブピクセル処理では、実際の標点間距離の動きよりも過敏に反応し、ひず



(a) 応力-ひずみ線図



(b) 破断時の応力-ひずみ線図

図8 校正の効果の検証

みが大きく振れてしまっていると考えられる。そのため、サブピクセル処理を行わない方が、実際の変位量に近くなると推測する。画像からの微小な変位量を高精度で取得するためには、サブピクセル処理等の画像処理方法に加え、カメラの画素数やレンズの倍率・歪みなどの検討を行う必要がある。

今回開発したシステムにおいて、ひずみ量が0.2%を超える領域であれば、従来のシステムと同等の結果が得られた。

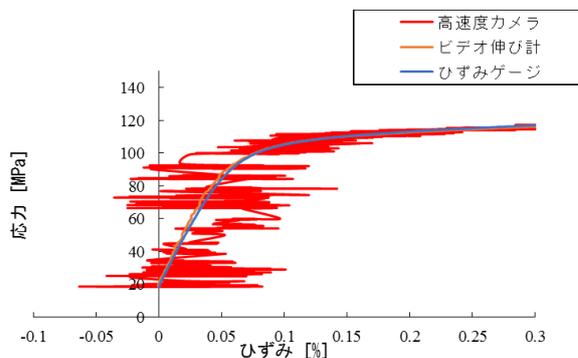


図9 サブピクセル処理を行った時の弾性域における応力-ひずみ線図

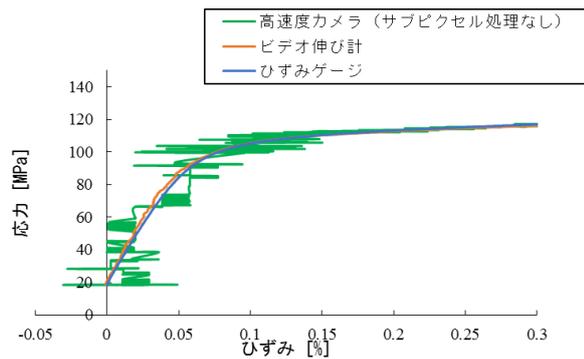


図 10 サブピクセル処理を行わない時の弾性域における応力-ひずみ線図

#### 4 まとめ

高速度カメラと画像処理技術を用いた伸び計システムの開発を行った結果、次の知見を得た。

- (1) 正確な弾性係数を求めたい場合、固定軸継手のチャック固定治具を用いる。
- (2) レンズの端に測定対象が映るときは、レンズの校正により、測定精度が向上した。
- (3) サブピクセル処理を行わないことで、測定値の振れが低減した。

今回開発した伸び計システムは、0.2%以上の伸びであれば様々な場所で測定が可能である。

万能試験機で試験を行えないような構造物の変位量を測定する等に開発システムを活用していきたい。

# 高分子フィルムのガスバリア性評価

牛木龍二・恩田紘樹

Evaluation of gas barrier property of polymeric film

Ryuji USHIKI and Koki ONDA

ガス透過性評価装置を試作し、汎用性フィルムである LDPE(low density polyethylene)フィルムに対する各種ガス(窒素、ヘリウム、二酸化炭素)透過試験を行った。ガス透過係数は文献値とほぼ一致した。そこで、二酸化炭素の透過性について LDPE と PVF(polyvinyl fluoride)フィルムについて比較した結果、PVF フィルムのガスバリア性が高いことが確認できた。これらの結果から、試作装置によるガス透過性が評価できることが確かめられた。

キーワード：ガス透過係数、LDPE フィルム、PVF フィルム

Trial apparatus was made to determine gas permeability coefficient of polymer thin film. To confirm whether the trial apparatus can be used to measure gas permeability or not, Nitrogen (N<sub>2</sub>), helium (He), and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) was applied to the apparatus by using well defined LDPE(low density polyethylene) and PVF(polyvinyl fluoride) membrane. When nitrogen (N<sub>2</sub>), helium (He) and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) were subjected to the trial apparatus, N<sub>2</sub>, He and CO<sub>2</sub> permeability coefficient of LDPE film showed  $0.847 \times 10^{-10}$ ,  $3.47 \times 10^{-10}$  and  $7.85 \times 10^{-10}$  cm<sup>3</sup>·cm/(cm<sup>2</sup>·s·cmHg), respectively and those were close to values reported in the references. In addition, CO<sub>2</sub> barrier property of PVF film was superior to that of LDPE film. Thus the exploratory attempt to evaluate gas permeability of polymer membrane was successfully achieved by means of the trial apparatus.

Keywords : gas permeability coefficient, low density polyethylene, polyvinyl fluoride

## 1 はじめに

高分子フィルムは軽量でフレキシビリティが高いため、しばしば食品や電子部品等の包装に用いられる。包装に用いる高分子フィルムの選定においては、製品の品質保持の観点からガスバリア性の優れた材料が好ましいとされ、センターにおいても様々な高分子フィルムの各種ガスに対する透過性能評価に関する要望が増えている。

そこで本研究では、自作のガス透過性評価装置を用いて、汎用性フィルムである低密度ポリエチレン(LDPE)フィルムに対する窒素(N<sub>2</sub>)、ヘリウム(He)、二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)のガス透過性を評価した。さらに LDPE と比較してガスバリア性に優れるポリフッ化ビニル(PVF)に対する CO<sub>2</sub> の透過性を評価したので報告する。

## 2 高分子フィルムのガス透過試験方法

本研究で用いた自作のガス透過性評価装置の試験セル部の模式図を図1に示す。支持体と試料を重ね合わせガラス管で挟み、その後、試料、支持体およびガラス管の接触部分をエポキシ系接着剤により接着することで試験セルの気密性を確保した。この時、試料を隔てて試験ガスが導入される側を高圧側、その反対側を低圧側とした。高圧側および低圧側の体積はそれぞれ 238.8cm<sup>3</sup> および 170.6cm<sup>3</sup> であり、試験ガスが透過する試料面積は  $2.83 \times 10^{-4}$  m<sup>2</sup> だった。また、評価時の温度は 291K とした。

高圧側に試験ガスを導入して高圧側の圧力を 760mmHg とした後、低圧側圧力の経時変化を測定し、単位時間あたりの低圧側

の圧力変化  $dp/dt$  から JISK7126-1 : 2006 「プラスチックフィルム及びシートーガス透過度試験方法ー第1部：差圧法」に規定されている式1によりガス透過度  $R$  を、式2によりガス透過係数  $P$  を算出した。

$$R = \frac{273 \times V_c \times 24}{T \times A \times P_u} \times dp/dt \quad \dots \text{式1}$$

$R$  : ガス透過度 [ $\text{cm}^3/(\text{m}^2 \cdot 24\text{h} \cdot \text{atm})$ ]  
 $V_c$  : 低圧側体積 ( $170.6\text{cm}^3$ )  
 $T$  : 試験温度 ( $291\text{K}$ )  
 $P_u$  : 高圧側の圧力 ( $760\text{mmHg}$ )  
 $A$  : 透過面積 ( $2.83 \times 10^{-4}\text{m}^2$ )  
 $dp/dt$  : 単位時間 (h) あたりの低圧側の圧力変化 ( $\text{mmHg/h}$ )

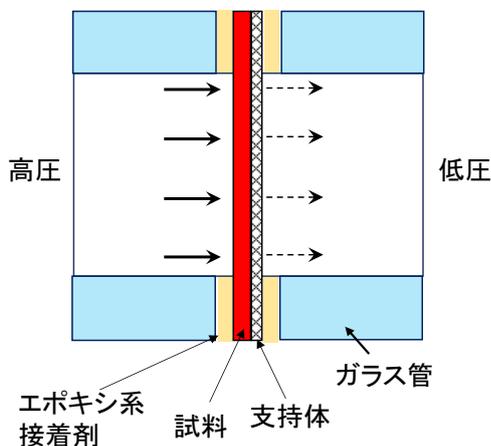


図1 本研究で作製したガス透過性評価装置の試験セル部の模式図

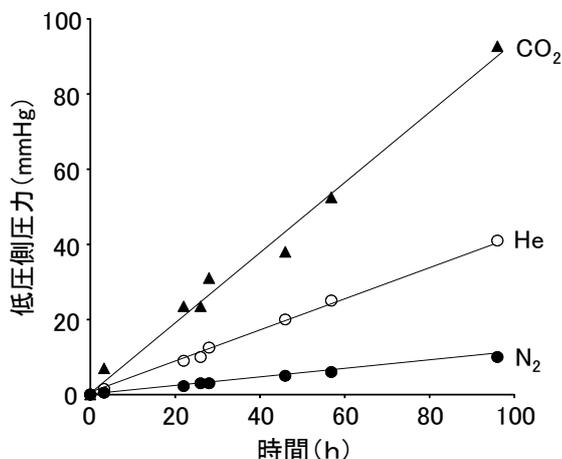


図2 LDPE フィルムの各種ガス透過性評価時の低圧側圧力の経時変化

$$P = 1.523 \times 10^{-12} R \times d \quad \dots \text{式2}$$

$P$  : ガス透過係数 [ $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg})$ ]  
 $R$  : ガス透過度 [ $\text{cm}^3/(\text{m}^2 \cdot 24\text{h} \cdot \text{atm})$ ]  
 $d$  : 試験片の平均厚さ (mm)

### 3 結果および考察

#### 3.1 LDPE フィルムのガス透過性評価

厚み  $30\mu\text{m}$  のアズワン製 LDPE フィルムについて、 $\text{N}_2$ 、 $\text{He}$  および  $\text{CO}_2$  透過性評価を行った場合の低圧側圧力の経時変化を図2に示す。試験ガスが  $\text{N}_2$ 、 $\text{He}$  および  $\text{CO}_2$  の場合、単位時間あたりの低圧側の圧力変化  $dp/dt$  はそれぞれ  $0.104\text{mmHg/h}$ 、 $0.427\text{mmHg/h}$  および  $0.966\text{mmHg/h}$  だった。

式1より、LDPE フィルムに対する  $\text{N}_2$ 、 $\text{He}$  および  $\text{CO}_2$  透過度はそれぞれ  $1.85 \times 10^3$ 、 $7.61 \times 10^3$  および  $1.72 \times 10^4 \text{cm}^3/(\text{m}^2 \cdot 24\text{h} \cdot \text{atm})$  となった。さらに得られたガス透過度から式2により LDPE フィルムに対する  $\text{N}_2$ 、 $\text{He}$  および  $\text{CO}_2$  透過係数はそれぞれ  $0.847 \times 10^{-10}$ 、 $3.47 \times 10^{-10}$  および  $7.85 \times 10^{-10} \text{cm}^3 \cdot \text{cm}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg})$  だった。

一般的に用いられる数十  $\mu\text{m}$  程度の厚みの LDPE フィルムに対する  $\text{N}_2$ 、 $\text{He}$  および  $\text{CO}_2$  透過係数はそれぞれ  $5.65 \times 10^{-11} \sim 1.132 \times 10^{-10}$ 、 $7.58 \times 10^{-10} \sim 1.36 \times 10^{-9}$  および  $4.95 \times 10^{-10} \sim 1.58 \times 10^{-9} \text{cm}^3 \cdot \text{cm}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg})$  と報告されており<sup>1), 2)</sup>、本実験で得

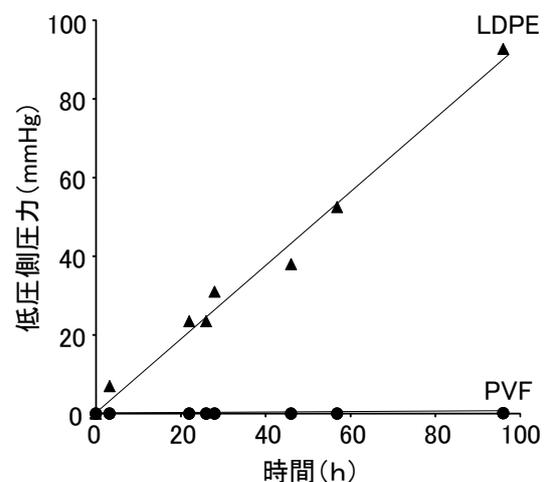


図3 LDPE フィルムおよび PVF フィルムの  $\text{CO}_2$  透過性評価時の低圧側圧力の経時変化

られた LDPE フィルムに対する N<sub>2</sub>、He、CO<sub>2</sub> 透過係数の値と概ね一致した。

### 3. 2 LDPE フィルムと PVF フィルムの CO<sub>2</sub> 透過性比較

前節で用いたガス種の中では CO<sub>2</sub> が最も LDPE フィルムに対する透過性が高かった。そこで、ガスバリア材料として用いられる PVF について CO<sub>2</sub> 透過性を評価することとした。なお、PVF フィルムは厚み 50 $\mu$ m の三商製テドラーバッグ<sup>®</sup>を用いた。

PVF フィルムの CO<sub>2</sub> 透過性評価を行った場合の低圧側圧力の経時変化を図 3 に示す。単位時間あたりの低圧側の圧力変化 dp/dt は 1.0 $\times$ 10<sup>-3</sup>mmHg/h だった。

式 1 より CO<sub>2</sub> 透過度は 18.5 cm<sup>3</sup>/(m<sup>2</sup>·24h·atm)であり、また式 2 より CO<sub>2</sub> 透過係数は 1.41 $\times$ 10<sup>-12</sup> cm<sup>3</sup>·cm/(cm<sup>2</sup>·s·cmHg)だった。

LDPE フィルムと比較すると PVF フィルムは厚みが 1.7 倍なのに対し、CO<sub>2</sub> 透過係数は 1/557 であり、厚みの違いを考慮しても CO<sub>2</sub> 透過係数は著しく小さかった。このことから、PVF フィルムは LDPE フィルムよりも CO<sub>2</sub> バリア性に優れることが示唆された。

## 4 まとめ

①自作のガス透過性評価装置を用いガス透過性試験を行った結果、一般的な厚みの LDPE フィルムに対する各種ガス (N<sub>2</sub>、He、CO<sub>2</sub>) 透過係数は文献値と概ね一致するものと思われた。

②PVF フィルムは LDPE フィルムと比較して CO<sub>2</sub> バリア性に優れることが確認できた。

このようにセンターで自作したガス透過性評価装置を用いることで、種々の高分子フィルムのガス透過性を評価できることが示唆された。今後、さらにガス透過性評価装置を改良し、透過ガスの定性・定量分析を可能にすることで、試料ガスが混合ガスの場合でもガス種ごとにその透過性を評価できるようにしたい。

## 文献

1) 仲川勤, 高分子, 14, 107-114(1965)

2) 伊藤行雄, 産業工芸試験所報告, No. 53, 第 21 号 1-6

## 味覚センサーを用いた賞味期限設定方法の検討

石田一成・櫛田麻希\*・木村紀久\*\*

Examination of establishment of best-before date by taste sensing system

Kazushige ISHIDA, Maki KUSHIDA and Norihisa KIMURA

食品の賞味期限の設定に味覚センサーを活用することは可能か、検討した。その結果、味覚センサーにより測定した味の変化と微生物試験の結果とはよく整合した。味覚センサーによる賞味期限的な分析と微生物試験による消費期限的な分析とに整合が見られたことにより、賞味期限の設定に味覚センサーを活用できる可能性を見出すことができた。

キーワード：味覚センサー、賞味期限

Possibility of establishment of best-before date by taste sensing system was examined. As a result, variations of tastes detected by taste sensing system and findings of measurement of microorganisms generally agreed. This agreement between determination for best-before date by taste sensing system and measurement of microorganisms for use-by date shows possibility of taste sensing system for best-before date.

Keywords : taste sensing system, best-before date

### 1 まえがき

消費者が飲食の適否を判断するための情報として、食品には「消費期限」または「賞味期限」を表示するよう、定められている。「消費期限」は、概ね5日以内に消費される傷みやすい食品に設定され、所定の方法での保存を前提に「記載の年月日までは安全に食べられる」期限である。「賞味期限」は、それほど傷みやすくはない食品に設定され、所定の方法での保存を前提に「記載の年月日までは品質が変わらずにおいしく食べられる」期限である。

当センターに賞味期限の設定の相談がされた場合には、多くの場合微生物試験で対応している。しかし、微生物試験は「消費期限」的な手法であり、微生物に依らない味の変化には有効ではない。他の方法としては「パネルによる官能試験」が普及しているが、複数パネル間の個人差、あるいは同一個人であっても健康状態や感覚の経年変化が懸念され、客観性に欠ける面がある

(なお、当センターでは官能試験は実施していない)。そのため、賞味期限の設定に際して、「味」の「客観的な数値データ」に基づいた評価方法の開発が求められている。

味覚センサーは、食品からその呈味成分を抽出した試料液を調製し、ある試料を基準にしたときの、他の試料の呈味を呈味の種類(酸味・塩味・苦味・渋味・旨味・甘味)毎に数値化して評価する装置である。本調査研究では、この味覚センサーを用いた賞味期限の設定について、その可否を調査する。具体的には、食品の保存中の味の変化を味覚センサーで追跡し、賞味期限設定に際しての留意点を明らかにすることを目的とする。

### 2 研究方法

#### 2.1 使用機器

味覚センサーは、(株)インテリジェントセンサーテクノロジー製 味認識装置TS-

5000Zを用いた。酸味・塩味・苦味・渋味・旨味・甘味のセンサーを用いて測定を行った。

遠心分離には、(株)久保田製作所製 テーブルトップ4000、スイングロータST-722Mおよびチューブラック250 mL (CODE No. 055-4850)を用いた。

## 2. 2 微生物試験

生菌数の測定は、標準寒天培地を用いて培養し、混積平板培養法により計測した。大腸菌群の判定は、デスオキシコーレイト寒天培地を用い、混積平板重層培養法により行った。

## 2. 3 分析系の設定

味の経時変化を調べる際には、「基準試料をいかに設定するか」ということが問題になる。即ち、対照試料と基準試料は同じ個体から調製したいが、そうすると対照試料を経時変化させる間に基準試料も経時する。対照試料とは別に基準試料を調製すれば基準試料の経時変化を考慮せずに済むが、その代わり個体差を排除しきれない。冷凍保存すれば経時変化はほぼ無視できるが、凍結・解凍時の変質、例えば成分の析出、の可能性がある。これらを踏まえ、3つの評価系を検討した(図1)。

別個体法は、基準試料と対照試料を別の個体から調製する方法である。冷凍保存する工程がないのが利点である。冷凍保存法には、基準試料、対照試料とも冷凍保存の工程がある。しかしながら、基準試料と対照試料を同一の個体から調製できる利点がある。都度分析法は基準試料と対照試料を同一の個体から調製し、かつ、対照試料については冷凍工程がないが、測定の回数が多くなるという欠点がある。各評価系の得失の比較を表1に示す。

評価系により結果に差が出るのか検証するため、本調査研究では別個体法と冷凍保存法で評価した。都度分析法は、分析回数が多いため実用性に乏しいと判断し、実施しないこととした。

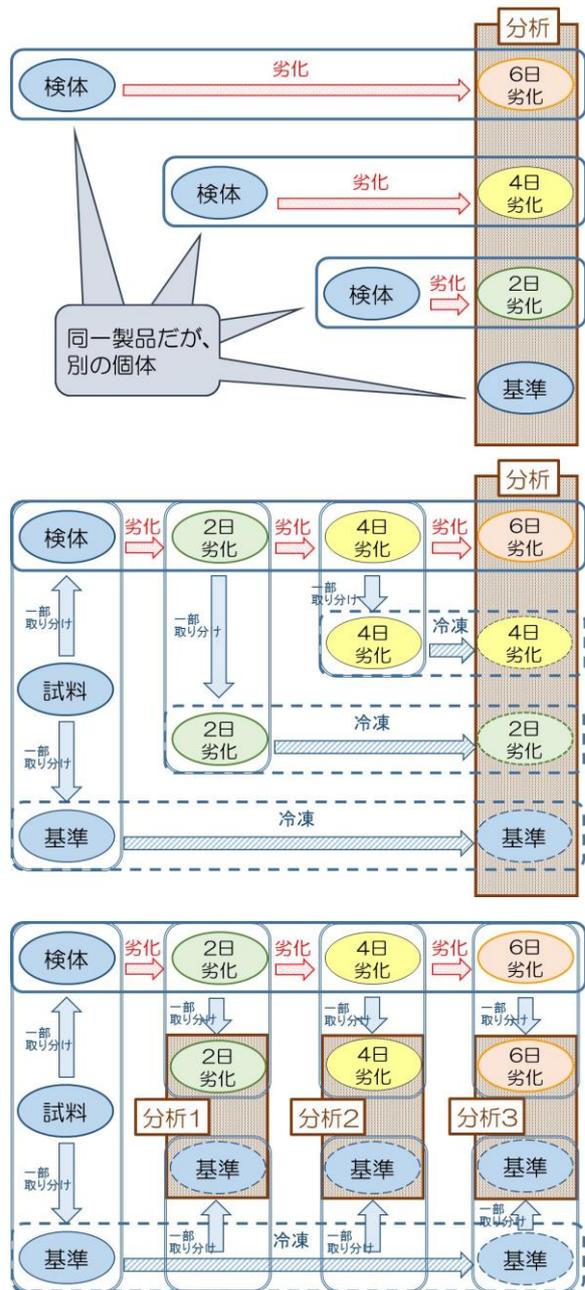


図1 評価系 上から順に別個体法、冷凍保存法、都度分析法

表1 各評価系の得失の比較

	別個体法	冷凍保存法	都度分析法
試料・基準の異同	別	同一	同一
試料の凍結	なし	あり	なし
基準の凍結	なし	あり	あり
測定回数	1回	1回	複数回

表2 試験方法と試料の組み合わせ ○：実施 △：翌日実施 -：不実施

試料	分析系	経過日数	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	
牛乳	別個体法	呈味分析	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	
		微生物試験	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○
	冷凍保存法	呈味分析	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○
		微生物試験	○	○	○	-	○	△	○	○	○	-	○
豆腐	別個体法	呈味分析	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
		微生物試験	○	○	○	○	○	○	○	○	-	-	-
	冷凍保存法	呈味分析	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		微生物試験	○	○	○	-	○	○	○	○	-	-	-

## 2. 4 試料

試料には牛乳と豆腐を用いた。

別個体法の牛乳は、超高温瞬間殺菌（UHT、130℃2秒間）の同一商品を同一店舗で所定の日ほぼ同時刻に購入した。購入した試料は、直ちに5℃の保冷庫で保存した。測定直前に開封して分析に供した。

冷凍保存法の牛乳は、超高温瞬間殺菌（UHT、130℃2秒間）の商品を実験初日に購入した。購入した試料から直ちに基準試料を取り分けて-20℃で冷凍保存し、残りを5℃の保冷庫で保存した。その後、所定の日この開封済み試料から対照試料を逐次取り分けて、-20℃で冷凍保存した。測定直前に基準試料および対照試料を解凍し、分析に供した。

別個体法の豆腐は、同一商品を同一店舗で所定の日ほぼ同時刻に購入した。購入した試料は、直ちに20℃の保温庫で保存した。測定直前に開封して前処理を施し、分析に供した。

冷凍保存法の豆腐は、実験初日に購入し、直ちに基準試料分1パックを取り分けて前処理を行い、処理試料を-80℃で冷凍保存した。残りのパックは20℃の保温庫で保存した。その後、所定の日1つのパックを対照試料分として取り分けて前処理を行い、処理試料を-80℃で冷凍保存した。測定直前に基準試料および対照試料を解凍し、分析に供した。

## 2. 5 前処理

牛乳は、購入した物を前処理せずに測定試料とした。

豆腐の前処理は以下のように行った。豆腐40gに純水160mLを加え、ハンドミキ

サーで1分間攪拌した。この懸濁液を、遠心分離機を用いて3500rpmで10分間遠心分離した。この上澄み液を5Aの濾紙を用いて濾過し、得られた濾液を測定試料とした。

## 2. 6 測定

試験方法と試験分析を実施した試料の組み合わせを表2に示す。試験予定日の都合等により、一部の試験分析は実施を見合わせた。

## 3 結果と考察

### 3. 1 牛乳の系

牛乳の別個体法および冷凍保存法では、ほとんどの呈味で試料の信号強度が弱いか試料間の差が小さく採用基準を満たさなかったため、味の違いを評価することは出来なかった。別個体法の渋味（後味）、冷凍保存法の苦味雑味（先味）がかろうじて採用基準を満たしたが、実際には測定誤差が大きすぎるように思われる。微生物試験でも全試料で生菌を「未検出」であった。この条件では、牛乳の劣化はほとんど進行しなかったものと思われる。

しかしながら、別個体法でも冷凍保存法でも、旨味（先味）および旨味コク（後味）は、時間の経過に伴って値が増大する傾向が見られた。旨味の代表的な呈味成分はアミノ酸であり、アミノ酸は牛乳の主成分たる蛋白質の分解生成物である。本研究では劣化の進行を追跡し切れなかったが、更に追跡していけば旨味（先味）や旨味コク（後味）の値が劣化の指標になる可能性はあると考えられる。

### 3. 2 豆腐の系

豆腐の呈味分析の結果を図2に示す。また、微生物試験の結果を表3に示す。

別個体法の呈味分析では、4日目までは味の変化が小さかったが、6日目から急に変化が大きくなった。微生物試験でも、4日目までは $10^4$ 代だったが、6日目から $10^7$ 代に増え、喫食不適なレベルになった。冷凍保存法の呈味分析では、6日目までは味の変化が小さかったが、8日目から変化が大きくなった。微生物試験でも、4日目までは $10^5$ 代だったが、6日目から $10^7$ 代に増え、喫食不適なレベルになった。

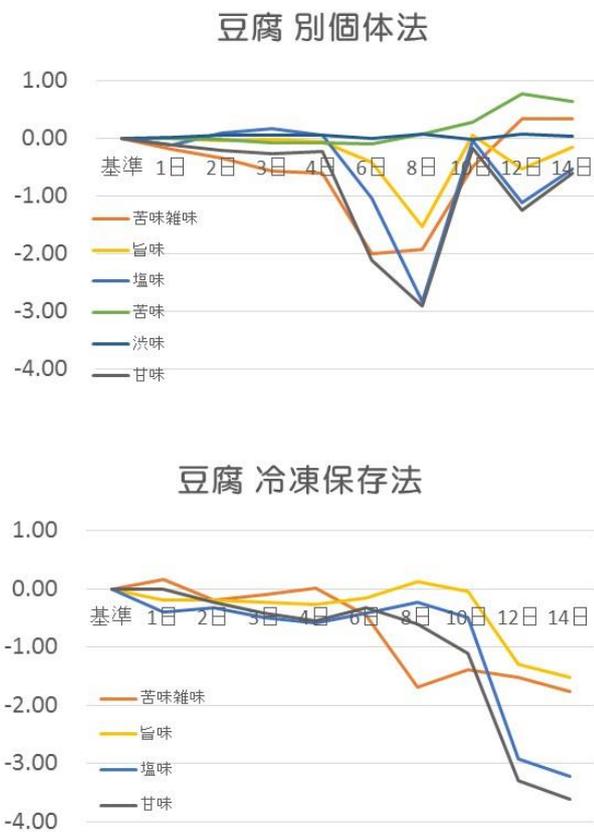


図2 豆腐の呈味分析の結果  
上：別個体法 下：冷凍保存法

表3 豆腐の微生物試験の結果

経過日数	0	1	2	3	4	6	8
別個体法	<300	<300	$2.0 \times 10^4$	<300	$8.5 \times 10^4$	$2.1 \times 10^7$	$5.1 \times 10^6$
冷凍保存法	<300	<300	<300	—	$1.4 \times 10^5$	$1.8 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$

両法とも呈味の変化と微生物の急増の時期は近接していた。呈味分析は微生物試験の先行指標にはならないが、代替指標にはなり得ることが示唆された。以下は豆腐に限ったことにはなるが、この結果により微生物試験による「消費期限」と呈味分析による「賞味期限」がほぼ同じ頃になることをも示している。

別個体法と冷凍保存法を比較すると、呈味分析および微生物試験で、急変が見られる時期はほぼ同じであった。あくまで豆腐からのみの推論になるが、食品の特性によりどちらの実験系で評価してもそう大きな差は生じないことが示唆される。例えば、野菜ジュースは、購入日による差は小さいものの冷凍することにより内容物の析出が懸念されるため、別個体法による評価の方がより適していると考えられる。一方、野菜そのものは、個体差が大きいので、冷凍による変化を無視して冷凍保存法で評価する方がより適していると考えられる。これら別の方法で評価した結果であっても、一応同列の議論が可能と見做せるのではないかとということである。

### 4 まとめ

食品の賞味期限の設定に味覚センサーを活用することは可能か、検討した。その結果、味覚センサーにより検出した味の変化と微生物試験の結果とはよく整合した。賞味期限的な味覚センサーによる分析と消費期限的な微生物試験とに整合が見られたことにより、賞味期限の設定に味覚センサーを活用できる可能性を見出すことができた。

## 酵母拡大培養用の培地の最適化に関する研究

渡部貴志・櫛田麻希・増渕 隆

Investigation of the yeast cultivation condition using yeast extracts  
Takashi WATANABE, Maki KUSHIDA and Takashi MASUBUCHI

清酒酵母の拡大培養に用いられる麴エキスは、調製が煩雑で労力がかかる。一方、清酒醸造に用いて良い栄養源には酒税法上の制約がある。そこで本研究では、調製が容易で低コスト、かつ清酒製造に影響を与えない新たな培地の検討を行うことにした。その結果、食品添加物として利用されている酵母エキスとグルコースを用いることで、麴エキスと同等の酵母の増殖が得られ、酒母造りの小仕込み試験でも有用性が示せた。

キーワード：清酒、拡大培養、麴エキス、酵母エキス、パイロットプラント試験醸造

Koji extracts, utilized as sake yeast extended cultivation, is prepared with many working power. On the other hand, the nutrients which can be utilized for sake brewing are regulated by the liquor tax law. The purpose of this study is to investigate the cultivation condition with easy handwork, low cost, and non-affect for sake brewing. Using food additive yeast extracts and glucose, yeasts grew as well as using koji extracts. The demonstration of the small scale yeast mash brewing test revealed that this condition is useful for yeast extended cultivation.

Keywords : Japanese sake, yeast extended cultivation, koji extracts, yeast extracts, small scale yeast mash brewing test

### 1 はじめに

現代の清酒造りでは、酒母（しゅぼ）造りで清酒酵母を添加し、増殖させて用いられている。この酒母造りの種酵母に用いられるものが、酵母拡大培養液であり、酒母造りの要となる。普通酒などに用いられている固形酵母や粉末酵母は、サトウキビジュースから砂糖を精製した残渣の糖蜜などを拡大培養の培地に用いられることがある。しかしながら、糖蜜は黒褐色が濃く、清酒の着色にも影響が出るので、酵母を無菌的に集菌、洗浄する必要がある。一方、一般的に酵母の拡大培養に用いられているのが、米麴を糖化して得られる抽出液（麴エキス）である。

無菌培養設備を有する大きな酒蔵では、仕込みで作る麴を用いれば良いので、麴エキスは原料費が安く優れた培地といえる。

しかしながら、大多数の酒造会社は、中小零細企業であるため、無菌培養施設が設置されておらず、各都道府県の公設試が、自社酵母や県独自酵母の拡大培養を担当している。ところが、公設試で麴を造り、エキスを抽出する作業は、膨大な作業時間を必要とする。種麴会社から乾燥麴を購入し、麴エキスを作成している公設試もあるが、エキスを抽出するだけでも多大な時間がかかってしまう。そこで以前、当センターでは、種麴会社から冷凍濃縮麴エキスを購入し、希釈した後に酒税法上使用が許されているグルコース、グルタミン酸ナトリウム、リン酸カリウムを添加した培地を検討した。しかしながら、酒蔵から酒母の品質経過が変わっている気がする指摘があり、検討した培地では栄養バランスが崩れてしまっている可能性が考えられた

そこで本研究では、業務の省力化を図り

つつ、良質な培養酵母の提供が可能となる、酵母拡大培養用の培地を目的に検討した。そして、酒税法上の問題が無く、調製が容易で安価な食品用の酵母エキスに着目し、酵母拡大培養の培地原料として適切であるか検討した。さらに、選定した酵母エキス培地を用い、酒母造りの小仕込み試験を実施したので、その結果を報告する。

## 2 実験材料と方法

### 2.1 供試酵母および使用培地

清酒酵母きょうかい701号 (K701) ときょうかい901号 (K901) は、日本醸造協会より購入したものをを用いた。群馬県独自酵母である、泡なし群馬G2酵母 (G16) は、県内酒蔵に頒布しているスラントのものを使用した。

酵母の増殖実験の前培養には、YM培地 (酵母エキス3 g/L、麦芽エキス3 g/L、ペプトン5 g/L、グルコース10 g/L) をを用いた。なお、グルコースは和光純薬、それ以外の栄養素はDIFCO社のものをを用いた。

酵母の本培養および拡大培養実験では、以下のものをを用いた。麴エキスは、秋田今野より冷凍濃縮麴エキス (Brix 20°) を購入し、Brix 5°になるように希釈した。希釈麴エキスは、冷凍濃縮麴エキスを12倍に希釈し、グルコース83 g/L、グルタミン酸ナトリウム 1.7 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g/Lを加えた。YM5培地は、YM培地のグルコースを50 g/Lにしたものをを用いた。酵母エキス培地は、酵母エキス0.5 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1 g/L、グルコース50 g/Lを基準に、酵母エキスの種類や添加量などを検討した。

検討した酵母エキスは、研究用試薬のDIFCO社と関東化学のもの他に、食品添加物用のSK-HU(T) (日本製紙)、SK-HiKC(T) (日本製紙)、SK-HUAP(T) (日本製紙)、ミーストP1G (アサヒフードアンドヘルスケア) をを用いた。

### 2.2 好気および嫌気培養条件

YM 5mLを含む試験管に酵母を一白金耳

接種し、30℃にて24時間、150 rpmの往復振とう培養を行った。

各拡大培養用培地30 mLを300 mL容三角フラスコに加え、滅菌蒸留水に置換した前培養液30 μLを接種し、30℃で200 rpmの回転振とうの好気培養を行った。増殖がおおよそ最大値となる24時間後に培養液を回収し、菌体増殖量をOD<sub>660</sub>で測定した。

各拡大培養用培地20 mLを50 mL容チューブに加え、滅菌蒸留水に置換した前培養液20 μLを接種し、30℃で静置による嫌気培養を行った。定常期となる120時間後に培養液を回収し、菌体増殖量をOD<sub>660</sub>で測定した。

### 2.3 分析方法

培地中の溶存態全窒素 (DTN)、溶存態全リン (DTP) はstandard methods<sup>1)</sup>に準拠して測定した。また、酵母の生菌率については、メチレンブルー染色法<sup>2)</sup>により分析した。

酸度、アミノ酸度、日本酒度は国税庁所定分析法に従い、分析を行った。糖類 (グルコース、マルトース)、エタノールは、高速液体クロマトグラフ、示差屈折率検出器を用い、分析を行った。香気成分 (酢酸エチル、イソアミルアルコール、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル) は、ヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した。

### 2.4 酒母造りの小仕込み試験

平成22年度兵庫県産山田錦 (40%精米) をを用い、表1に示す条件で総米200gの小仕込み試験を行った。麴エキス (Brix 5°) 25 mLに酵母を一白金耳接種し、23℃で4日間静置培養を行った。これを酒母の代わりに用い、培養液をそのまま、あるいは水道水で置換したものを添加した。麴米は、

表1 酒母造りの小仕込み試験条件

	酵母	酒母	計
総米 (g)		200	200
麴米 (g)		60	60
掛米 (g)		140	140
汲水 (mL)	25	275	300

表2 各培地の好気条件での酵母の増殖と窒素、リン濃度

培地の種類	酵母の増殖 (OD <sub>660</sub> )			DTN	DTP
	K701	K901	G16	(mgN/L)	(mgP/L)
麴エキス	7.7	8.1	8.7	254.5	27.4
希釈麴エキス	5.8	6.0	5.4	128.3	124.7
YM5	23.7	22.4	24.1	1037.4	52.0
DIFCO 0.5g/L	2.2	2.4	2.2	27.2	31.6
関東化学 0.5g/L	0.3	0.2	0.1	27.2	32.6
SK-HU(T) 0.5g/L	0.3	0.3	0.7	1.0	33.5
SK-HiKC(T) 0.5g/L	1.3	0.2	1.0	32.9	33.6
SK-HUAP(T) 0.5g/L	1.2	0.9	1.5	15.4	33.5
ミースト P1G 0.5g/L	3.3	2.8	3.6	55.7	36.5
ミースト P1G 1.0g/L	7.1	6.7	7.6	102.8	47.5
ミースト P1G 1.5g/L	10.4	9.7	10.7	161.9	58.0
ミースト P1G 1.5g/L P 無添加	9.5	8.9	9.9	166.0	32.2

ハイG（樋口松之助商店）を種麴として製麴したものをを用いた。掛米は洗米後、30%吸水率となるように浸漬し、蒸籠で蒸したものをを用いた。なお、汲水は、水道水を用い、乳酸1.5 mLを加えた。仕込温度20℃、5日間の中温速醸で行った。

### 3 結果と考察

#### 3.1 好気条件での酵母の増殖量

微生物の増殖には、炭素、窒素、リンの含有量が大きく影響を与える。この他、微量元素とビタミン含有量も、微生物の増殖性に影響を与える。また、清酒酵母は通性好気性の微生物であり、好気培養時に培地中の栄養成分を最大限利用した時の増殖量が得られる。そこで、3種類の酵母を用い各培地での増殖量を調べることにした。

まず、通常使う麴エキスと、省力化で使用している希釈麴エキス、研究用のYM5培地を用いて酵母の増殖量を調べたところ、麴エキスに比べ、希釈麴エキスの増殖はいずれの酵母でも8割以下であった（表2）。また、実際の仕込みには使えないYM5培地では、麴エキスの3倍程度の増殖量が得られた。そこで、窒素とリンの含有量を調べたところ、希釈麴エキスは麴エキスに比べ、窒素源が半分程度で不足しており、リンは5倍弱で過多であることが分かった。また、希釈により、微量元素やビタミンも不足していることも予測された。一方、

YM5培地の窒素含有量は、麴エキスの4倍程度であるのに対し、リンは2倍程度であったことから、不足している栄養素は窒素であると予測された。

酵母エキスは、酒税法上、拡大培養に用いることができるが、麦芽エキスとペプトンは使用できない。そこで、酵母エキスを窒素、微量元素、ビタミン源とし、同じく利用できるKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>とグルコースを用いた培地を検討してみることにした。用いた6種類の酵母エキスの中では、ミーストP1Gが最も増殖性が良かった（表2）。さらに添加量の検討をした結果、ミーストP1Gを1.5 g/L加えると麴エキスより少し増殖が良く、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>を無添加の方が、窒素とリンの含有量が麴エキスと近かった。

#### 3.2 嫌気培養による酵母への影響

先の好気培養の検討では、酵母の最大増殖量を調べることができるが、群馬県の拡大培養は静置による嫌気培養で行われている。嫌気培養は4日間行っているが、酒造会社が受け取った次の日以降使用していることが多いため、5日目の酵母の増殖量と生菌率を調べることにした。

希釈麴エキス以外の嫌気培養の菌体増殖量は、好気培養より下がるか同程度であった（表3）。嫌気条件でのアルコール発酵で得られるエネルギーと、エタノールストレスの関係から、菌体増殖量が下がっていることが分かる。一方、希釈麴エキスでは、

表3 各培地の嫌気条件での酵母の増殖と生菌率

	K701		K901		G16	
	OD <sub>660</sub>	生菌率 (%)	OD <sub>660</sub>	生菌率 (%)	OD <sub>660</sub>	生菌率 (%)
麴エキス	7.7	99.1	7.9	99.2	7.4	96.8
希釈麴エキス	7.8	99.6	8.2	99.6	8.5	99.6
YM5	13.9	98.0	13.6	97.8	13.3	97.3
ミースト P1G 1.5g/L	8.1	97.7	8.5	98.1	8.4	97.9
ミースト P1G 1.5g/L P 無添加	6.7	97.4	8.1	98.9	7.7	96.6

表4 酵母の小仕込み試験のまとめ

	重量減少量 (g)	日本酒度	酸度	アミノ酸度	酵母数	生菌率 (%)	エタノール	グルコース	マルトース
					( $\times 10^8$ /ml)		(% (v/v))	(%)	(%)
K701 培養液									
麴エキス	35.2	-25.4	5.9	1.0	1.2	95.9	10.3	3.0	1.6
希釈麴エキス	32.3	3.9	6.1	1.0	1.1	90.6	9.5	4.4	2.0
酵母エキス	32.6	-23.6	6.0	0.9	1.1	97.8	9.6	3.6	1.7
K701 水道水に置換									
麴エキス	37.3	-25.8	6.0	1.0	1.1	95.3	10.9	2.9	1.5
希釈麴エキス	35.8	3.0	6.0	1.0	1.2	93.7	10.3	3.7	1.9
酵母エキス	35.6	-25.8	6.1	1.0	1.1	98.0	10.5	3.6	1.7
K901 培養液									
麴エキス	38.1	-20.9	6.0	1.0	1.1	95.3	11.5	2.3	1.5
希釈麴エキス	37.2	-22.7	6.2	0.9	1.1	93.3	11.1	2.6	1.7
酵母エキス	35.7	-22.0	6.1	0.9	1.2	95.8	11.0	2.7	1.5
K901 水道水に置換									
麴エキス	37.6	-23.5	6.1	1.0	1.1	98.0	11.0	3.0	1.6
希釈麴エキス	36.0	-25.7	6.1	0.9	1.1	98.1	10.7	3.3	1.6
酵母エキス	35.1	-25.9	6.1	0.9	1.2	95.6	10.1	5.1	2.0
G16 培養液									
麴エキス	36.3	-26.7	6.1	1.0	1.1	97.7	10.6	2.9	1.8
希釈麴エキス	34.8	3.1	6.3	1.0	1.1	95.6	10.4	3.6	1.9
酵母エキス	33.9	-21.3	6.1	1.0	1.1	98.0	9.9	5.0	1.7
G16 水道水に置換									
麴エキス	36.3	-26.0	6.0	1.0	1.2	95.7	10.5	3.2	1.5
希釈麴エキス	36.7	3.5	6.2	1.1	1.1	95.3	10.6	4.3	1.7
酵母エキス	35.4	-26.3	6.2	1.0	1.2	98.1	10.3	3.9	1.7

好気培養より嫌気培養の値の方が高くなった。希釈麴エキスには、栄養素が不足しており、24時間の培養では最大増殖量に到達していなかったことが原因と思われる。また、生菌率はいずれも95%以上の良好な値を維持しており、ミーストP1Gとグルコースのみを原料とした培地条件に問題が無いと推測された。

### 3.3 小仕込み試験による評価

最後に酒母造りの小仕込み試験を行ったところ、選定した酵母エキス培地は、麴エキス培地と同様の成分となる酒母を造ることができた(表4)。一方、希釈麴エキスを用いた場合、K701、G16のときに日本酒度に影響が出てしまうことが確認された。

## 4 まとめ

本研究では、業務の省力化をしつつ、良質な培養酵母の提供が可能な、酵母エキスを用いた培地を選定することができた。

## 謝辞

(株)日本製紙と(株)アサヒフードアンドヘルスケアには、酵母エキスを提供して頂いた。また、関東信越国税局太田鑑定官には、酒税法上のアドバイスを頂いた。

## 文献

- 1) APHA et al.,: Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th Ed (1998)

## サーマルサイクラーを利用した酵母の簡易識別法の検討

櫛田麻希・渡部貴志・増渕 隆

Study on the simplified yeast's identification method using PCR  
Maki KUSHIDA, Takashi WATANABE, Takashi MASUBUCHI

清酒造りにおいて複数種の酵母を用いるとき、酒蔵の目的に合わせた酒質にするためには、もろみ中の酵母の比率を管理する必要がある。そこで本研究では、サーマルサイクラーを活用し、酵母のゲノム配列から特定の部位を増幅することによって、簡易的な識別方法の開発に取り組んだ。

キーワード：酵母、簡易識別法、ゲノム、サーマルサイクラー

In the case of Japanese sake brewing with several kinds of sake yeast strains, it is needed that management of the yeasts rates in sake mash to control of the quality as meeting maker's target. The purpose of this study is to develop the simplified yeast's identification method, by amplified specific fragments from yeast genomic DNA using polymerase chain reactions (PCR).

Keywords: yeasts, simplified identification method, genomic DNA, PCR

### 1 はじめに

清酒造りにおいて、清酒酵母はアルコール発酵に伴い吟醸香、有機酸を生産する非常に重要な微生物である。このため、各酒蔵はそれぞれに作りたい清酒の品質に合わせて酵母を選択し、醸造に用いており、時には複数種の酵母を混合することもある。複数種の酵母を用いるとき、酒蔵の目的に合わせた酒質にするためには、もろみ中の酵母の存在比率を管理する必要がある。

また、近年は様々な機関によって、花や果実などから野生酵母を単離し、独自性の高い清酒造りが試みられている。ところが、野生酵母は一般的に発酵力が弱いため、実際の酒造りに用いた場合、もろみ中の酵母叢は発酵力が旺盛な蔵付きの清酒酵母に置き換わってしまうことが多い。したがって、清酒もろみ中の酵母叢を迅速かつ簡便に解析することが求められている。

しかしながら、酵母細胞やその集合体であるコロニーは、見た目がほとんど差は無

く、目視による判別は不可能である。そこで従来の酵母の判別は、TTC染色法<sup>1)</sup>やβ-アラニン法<sup>2)</sup>、酸性ホスファターゼ活性の染色法<sup>3)</sup>など、主に生理学的性質を利用した手法が用いられてきた。これらの手法は、高額な機器を必要としないため、広く汎用されてきたが、培養に時間がかかる他、生理的に似通った性質の清酒酵母を識別することができない。一方、遺伝子配列を増幅させるpolymerase chain reaction (PCR)を利用し、清酒酵母間の遺伝子配列の差異で識別する手法が報告されている<sup>4)</sup>。

以上のことから、もろみから酵母をシングルコロニー化し、得られた酵母をPCRによって識別することができれば、もろみ中の酵母叢を解析できると考えた。そこで本研究では、サーマルサイクラーなどの基盤設備を整備し、酵母の簡易識別法が有効であるか検討したので報告する。

表1 プライマーの名称と配列

Primer	Sequence
YDRWdelta25-F	5'-ATGGAGACAAATACGCGCAAATTGAGCATC-3'
YDRWdelta25-R	5'-GTTGTAAGACTCGATGCACTAAACAGTCAT-3'
YELWdelta5-F	5'-TTCTCATCATTTGCGTCATCTTCTAACACC-3'
YELWdelta5-R	5'-GCTTTTTCTACATTCAATGACTACTTCTCG-3'
YGRWdelta21-F	5'-GCTTTGTATTGGATCTTATAGCACTGCTTC-3'
YGRWdelta21-R	5'-GGCGTTACTTACATGTGATAGGTTTCATTAG-3'
YLRWdelta20-F	5'-TCACGTCAGAATAGTTTTTGTGCATCTATG-3'
YLRWdelta20-R	5'-AAATGGATGGATAATTTGATAATTGCTGGG-3'
YPLWdelta7-F	5'-GTATGGTCAGAAAATGATCGTGGTGTTC-3'
YPLWdelta7-R	5'-ATCCTTGCGTTTCAGCTTCCACTAATTTAG-3'

## 2 実験材料と方法

### 2.1 供試酵母

清酒酵母27株を（独）酒類総合研究所より研究用に分譲して頂いたものを用いた。清酒酵母きょうかい1801号（K1801）は、日本醸造協会より購入したものを用いた。群馬県独自酵母G2とその泡なし株（G16）は、当センターの保存株を用いた<sup>5)</sup>。

### 2.2 ゲノムDNA抽出方法

前培養は、YM培地（酵母エキス3 g/L、麦芽エキス3 g/L、ペプトン5g/L、グルコース10 g/L）を用いた。すなわち、試験管に5 mLのYM培地を加え、酵母を一白金耳接種し、30℃、140 rpmで24時間の振とう培養を行った。培養液1 mLを遠心分離（15000×g, 1 min）し、得られた菌体からGenとるくん（タカラバイオ）を用いてゲノムDNAを抽出した。

### 2.3 PCR条件

福田らの報告<sup>6)</sup>を参考に、長鎖末端反復配列をターゲットとしたプライマーを用いることにした（表1）。ポリメラーゼにはKOD-FX（東洋紡）を用い、マニュアルに準拠し、T100™サーマルサイクラー（BIO-RAD）でPCRを行った。

### 2.4 アガロース電気泳動

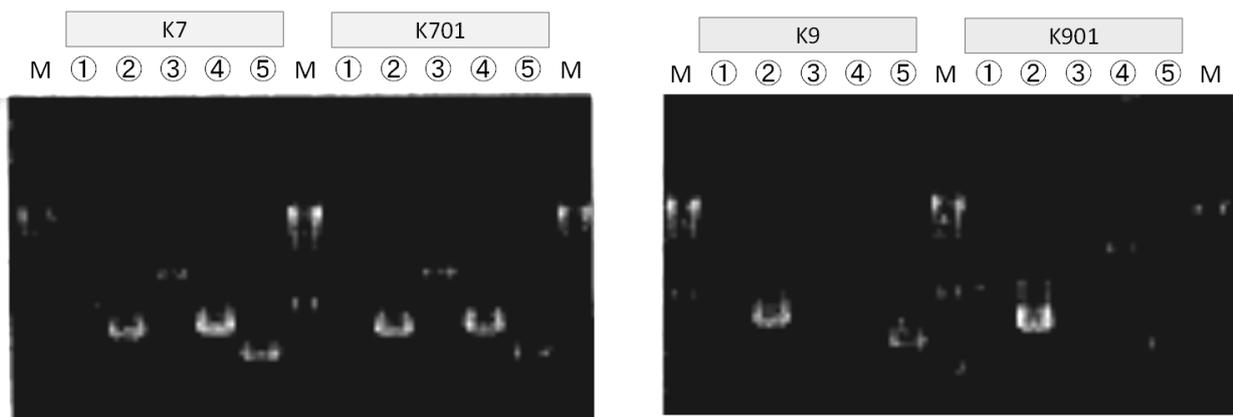
Agarose S（ニッポンジーン）と1×TAEバッファー（BIO-RAD）を用いて1% アガロースゲルを作成した。PCR反応液をアガロース電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色後、UV励起により増幅した遺伝子のバンドの有無を確認した。

## 3 結果と考察

### 3.1 PCR法の基盤整備

PCRは、サーマルサイクラーや電気泳動槽、写影装置などの設備が必要なだけでなく、酵母からのゲノムDNA抽出試薬や、PCR反応試薬が必要である。また、日本醸造協会から頒布されている清酒酵母は、清酒醸造契約または研究利用契約を結ぶ必要があり、利用方法が厳しく制限されている。このため、PCRを用いた酵母の判別方法を実際の酒造りに有効活用した事例はほとんどない。そこでまず、機器整備や研究利用できる酵母を取り寄せることなど、PCR法を検討するための基盤整備に取り組んだ。

最も利用されているきょうかい7号系酵母（K7、K701）およびきょうかい9号系酵母（K9、K901）を用い、福田らの報告<sup>6)</sup>の検証を行った。きょうかい7号系酵母は、*YLRWdelta20* のバンドが確認されたのに対し、きょうかい9号系酵母には検出されなかったことから（図1）、本方法の有効性が確認できた。一方、*YDRWdelta25*、*YGRWdelta21* については、いずれの酵母も増幅されないとされているが、薄い偽陽性のバンドが検出された。これは、福田らの報告では、一般的なポリメラーゼであるEX-Taq（タカラバイオ）を用いているのに対し、本研究では、遺伝子増幅性が最も高いとされるKOD-FXを用いていることが影響していると推測される。



M Maker、①YDRWdelta25、②YELWdelta5、③YGRWdelta21、④YLRWdelta20、⑤YPLWdelta7

図1 アガロース電気泳動写真

左図はきょうかい7号系酵母、右図はきょうかい9号系酵母のゲノムが鋳型のPCR反応液

表2 増幅DNA断片の有無の結果一覧

菌株	<i>YDRWdelta25</i>	<i>YELWdelta5</i>	<i>YGRWdelta21</i>	<i>YLRWdelta20</i>	<i>YPLWdelta7</i>
RIB0001	○		○	○	
RIB0002	○		○	○	
RIB0003	○		○	○	
RIB0004	○		○	○	○
RIB0005	○		○	○	
RIB0006	○		○	○	
RIB0007	○		○	○	
K1	○		○	○	
K2			○	○	
K3	○		○	○	
K4	○		○	○	
K5	○		○	○	
K6		○		○	
K601		○		○	○
K7		○		○	○
K701		○		○	○
K8	○			○	
K9		○			○
K901		○			○
K10	○	○		○	○
K11		○		○	○
K12		○			○
K13	○	○		○	
K14		○			○
K15		○		○	○
K1601	○	○		○	○
K1701		○			○
K1801	○	○		○	○
G2		○			○
G16		○			○

### 3. 2 各種酵母の識別試験結果

PCR法の基盤整備によって、福田らの報告の有効性が確認されたことから、清酒酵母30株を用いてPCRを行った。福田らは、日本醸造協会から頒布されている株のみの識別試験を行っており<sup>6)</sup>、本研究においてそれらの再現性が確認できた(表2)。

また、本研究では、清酒酵母として初めて分離された株であるRIB0001からRIB0007までの古い清酒酵母、日本醸造協会が頒布を止めたK1~K5、K8、K12、K13について検討した。RIB0001からK5までの古い清酒酵母は、全て*YGRWdelta21*の増幅が確認された。これらの酵母は、日本醸造協会が頒布されている酵母と系統が異なっていることが明らかになっており<sup>7)</sup>、*YGRWdelta21*の増幅の有無が一つの識別指標となりうることを示した。

一方、群馬県独自酵母であるG2、およびその泡なし株のG16は、金沢酵母系のK14と同系列であると考えられてきた。本研究での検討の結果、K14、G2、G16は全て同じ増幅パターン(*YELWdelta5*と*YPLWdelta7*が増幅)を示しており、その推測が裏付けられた。

現在の全国新酒鑑評会などの出品酒の造りには、低酸性かつカプロン酸エチル高生産株のK1801と、発酵が穏やかで酢酸イソアミル高生産株のK1401(K14の泡なし株)を混合することが多い。本研究でも福田らの報告どおり、*YLRWdelta20*の増幅の有無でK14とK1801が識別できたことから、実際のもろみ中の酵母の存在比率を解析できる可能性が示唆された。

当センターではこれまでに、群馬県酵母のゲノムDNAのパルスフィールド電気泳動による解析<sup>8)</sup>や、他研究機関と共同して清酒酵母の遺伝子機能解析による新規酵母選別法の検討<sup>9~11)</sup>に取り組んできた。しかしながら、一般的に遺伝子解析研究は、成果が出るまでに長い時間が要するものが多く、これらの研究も直接的に企業支援へ結びつきにくいものであった。一方で、本研究ではまず企業ニーズに対し、支援する方法を文献調査し、福田らの報告<sup>6)</sup>が有効ではないかと考え、実証試験を行ったので明

確な結果を得ることができたと考えられた。

## 4 まとめ

本研究では、清酒造りのもろみ中の混合酵母の存在比率や酵母叢を解析できるようにするため、福田らの報告<sup>6)</sup>のPCRによる酵母の簡易識別法を検討した。研究利用でできる清酒酵母の収集や、サーマルサイクラーなどの基盤設備を整備することにより、福田らの報告<sup>6)</sup>を再現できた。また、RIB0001からK5までの古い清酒酵母は、日本醸造協会が頒布されている酵母と系統が異なっており<sup>7)</sup>、*YGRWdelta21*の増幅の有無により、その裏付けが容易に確認できた。さらに、群馬県独自酵母のG2、およびその泡なし株のG16は、金沢酵母系のK14と同系列であることを裏付ける結果も示した。これらのことから、実際のもろみ中の酵母の存在比率を解析できる可能性が示唆された。

## 謝 辞

前橋工科大学 林秀謙准教授には、アガロース電気泳動写真を撮る際に研究室設備を利用させて頂いた。

## 文 献

- 1) 清酒酵母研究会編：改定清酒酵母の研究、463-467 (1980)
- 2) 菅間誠之助ら：日本醸造協会雑誌、453-456 (1965)
- 3) 溝口晴彦ら：日本醸造協会誌、361-364 (1980)
- 4) 福田央：日本醸造協会誌、202-211 (2014)
- 5) 増淵隆ら：平成24年度群馬県立産業技術センター研究報告、38-41
- 6) 福田央ら：日本醸造協会誌、57-67 (2012)
- 7) 赤尾健：科学と生物、223-232 (2014)
- 8) 福本亮平ら：平成17年度群馬県立産業技術センター研究報告、31-34
- 9) 増淵隆ら：平成24年度群馬県立産業技術センター研究報告、20-24
- 10) 増淵隆ら：平成25年度群馬県立産業技術センター研究報告、5-10

11) 増渕隆ら：平成26年度群馬県立産業  
技術センター研究報告、1-6

**その他**

## 誘電泳動法を用いたiPS再生医療のための 細胞分離装置の開発とその商品化

北島信義・田島 創・箱田 優\*・中山雅史\*\*

Development of dielectrophoresis separation device for iPS cells  
Nobuyoshi KITAJIMA, So TAJIMA, Masaru HAKODA and Masashi NAKAYAMA

本研究は、iPS細胞を用いた再生医療に用いる分離装置の開発と本分離デバイスの低コストによる製品化を目標として検討した。分離装置の評価に関しては、分離デバイスの傾斜櫛歯状電極の電極間距離、マイクロ流路の高さ、送液流量、印加電圧等について検討し、分離効率90%を達成することができた。また、低コストの分離デバイスの製造法としては、電極基板は蒸着金属薄膜をレーザー加工、マイクロ流路部は医療用両面テープをレーザー加工、液出入口の付いた上板は金属細管付ポリカーボ板を用いて試作した。

キーワード：誘電泳動、iPS細胞、細胞分離

We examined the development of a cell separation device using dielectrophoresis phenomenon and studied the operation conditions for efficient separation. In this experiment, the mouse iPS cells and feeder cells (MEF) as sample cells were used. The influences of the distance between the electrodes, height of flow path, flow rate on the separation and applied voltage were considered. As a result of the experiment, the separation efficiency of two kinds of cells was 90%.

Keywords: dielectrophoresis, iPS cells, cell separation

### 1 はじめに

近年、京都大学 山中らによるiPS細胞の開発から、多くの分野で再生医療の研究や臨床応用が実施されている。それらの医療技術の発展に伴って、細胞の培養、分離・分析操作には高い分析精度と操作性および安全性が求められている。細胞や生体分子を対象とする従来の分離・分析には、レーザーと蛍光標識を利用したセルソータなどの自動細胞分析装置が広く使用されている。セルソータは分離・分析精度が高く、細胞処理速度が非常に速い利点を有している。しかし、これらの分析装置には、①装置操作が煩雑、②装置コストが高い、③細胞の染色が必要などの課題が挙げられる。

一方で、誘電泳動現象は細胞の特性評価や細胞分離技術として近年、注目されている技術である。誘電泳動現象とは、不均一交流電場中に置かれた粒子が分極し、クー

ロン力により泳動する現象である。粒子と周囲溶媒の誘電率の大小関係により泳動方向を制御することができ、泳動速度は交流電場の周波数と電圧により制御可能である。この誘電泳動現象を利用した細胞分離では細胞を非染色、非侵襲で分離、選別が可能であること、細胞の種類や活性の相違によって分離が可能であること、装置コストが廉価といった利点がある。しかしながら、連続分離ができないことや分離性能の低いこと、および再生医療で用いるためには使い捨てのデバイスが望まれるが、使い捨てできるほどの廉価でないことが課題となっている。

本研究では、傾斜櫛歯状電極を有した誘電泳動分離デバイスを用いて連続的な分離を行い、分離性能を向上させる実験条件の検討と将来の医療分野で使用可能な性能を有し、使い捨て可能な廉価のデバイス開発について検討を行った。

## 2 細胞分離デバイスの開発

### 2.1 傾斜櫛歯状電極付き誘電泳動デバイスの分離原理

分離デバイスの概念を図1に示す。デバイスに設置されたマイクロ流路は、入口A、Bがあり、Aからは周囲溶媒が供給され、Bから細胞懸濁液が供給される。それらの液は、流路合流部で合流するが、マイクロ流路内の流れは基本的には層流であるため、Aから供給された液は流路のA側を流れ、Bから供給された細胞懸濁液は流路B側を流れて混合することは無い。

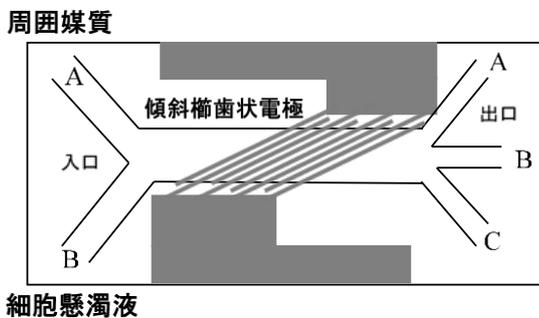


図1 分離デバイスの概念図

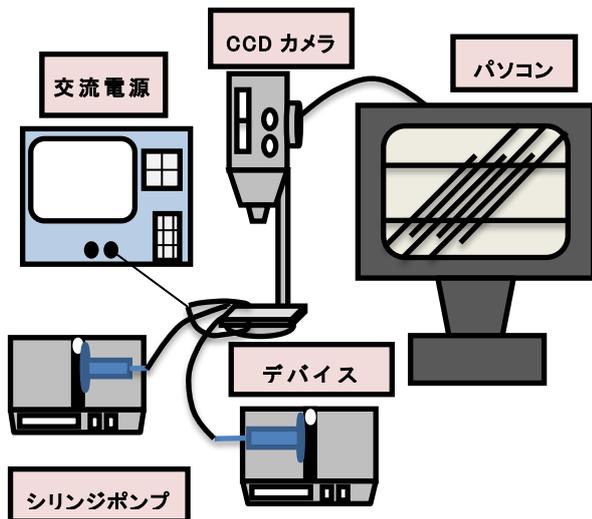


図2 分離システム全体の概略図

それらの液は、傾斜櫛歯状電極部を通過するとき、細胞に誘電泳動力が働き、誘電泳動力が大きな細胞は傾斜櫛歯状電極に沿ってA側へ泳動するため、出口Aへ流出する。誘電泳動力が作用しない細胞は、力を

受けないため、偏向することなく出口Cへ流出する。その中間の誘電泳動力を受ける細胞は、出口Bへ流出する。以上の原理で分離が可能になる。その誘電泳動力に影響する因子は、電極間距離、マイクロ流路の高さ、交流電圧、交流周波数、液流速などがある。

### 2.2 実験装置および方法

本実験では傾斜櫛歯状電極を設置した誘電泳動分離デバイスを用いた。分離システム全体の概略を図2に示す。分離デバイスへはシリンジポンプにより送液し、交流電源により任意の周波数の交流電圧を印加する。分離デバイス内の細胞の挙動は、CCDカメラとパソコンを用いて観察すると共に動画を記録し解析した。マウスiPS細胞とそれと共に共培養されたマウス線維芽細胞MEFとの分離を行い、その装置形状と操作条件の検討を行った。

### 2.3 実験結果

傾斜櫛歯状電極の電極間距離 $25\ \mu\text{m}$ 、 $50\ \mu\text{m}$ の2種類、マイクロ流路高さ $25\ \mu\text{m}$ 、 $50\ \mu\text{m}$ 、 $100\ \mu\text{m}$ の3種類、送液流量、送液流量比などを変化させ、最適条件を検討した。その結果、最も良い結果が得られたときの回収率を図3に示す。実験条件は電極間距離 $25\ \mu\text{m}$ 、マイクロ流路高さ $50\ \mu\text{m}$ 、周波数 $10\ \text{kHz}$ 、細胞懸濁液側の流量 $1.5\ \mu\text{l}/\text{min}$ 、周囲媒質側の流量は $3.0\ \mu\text{l}/\text{min}$ である。それぞれの出口における回収率に及ぼす印加電圧の影響を示した。図3の結果より、 $6\ \text{Vpp}$ 印加時が出口AおよびBにおいてMEF細胞とiPS細胞の回収率の差が最も大きい結果となった。MEFは誘電泳動力を受け、出口A側へ泳動したが、iPSは誘電泳動力を受けないため、出口C側を流れたためである。図3の出口Aのみの結果では2細胞の回収率の差は、約0.5であり最大であった。次に、同じ実験結果を用いて、出口AにおけるMEFとiPSの細胞の割合を図4に示す。その結果、 $5\ \text{Vpp}$ 以上の交流電圧を印加すると、MEF細胞の割合が約90%程度になることが明らかとなり、本装置の有効性が立証された。

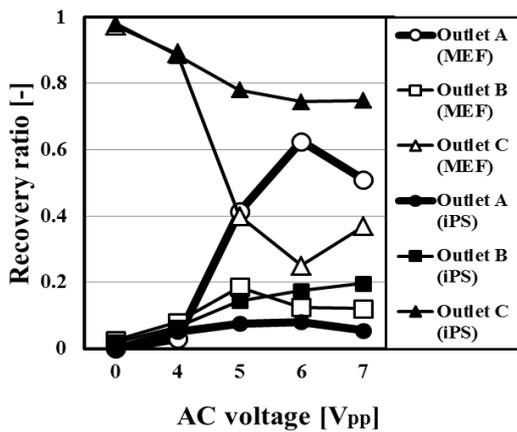


図3 回収率に及ぼす交流電圧の影響

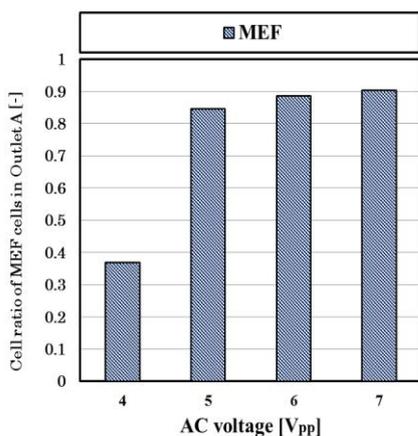
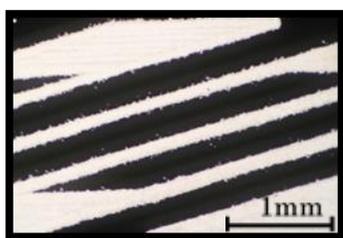


図4 出口AにおけるMEF細胞の割合



(a) ポリカーボネート板



(b) ガラス板

図5 レーザー加工による傾斜櫛歯状電極

### 3 廉価なデバイスの試作について

本研究では、マイクロ流路を備えたプラスチック成形による上部と傾斜櫛歯状電極

を備えた下部を接合する分離デバイスを廉価に量産することを目的とした。そのために、プラスチック成形のための金型およびプラスチック材料の検討を行った。樹脂材料として、液漏れを防ぐため、電極基板との密着性を考慮し、軟性素材の中から、軟質塩ビ、エラストマーなどを選定した。しかし、マイクロ流路の高さが小さいこと、および成形した場合の“反り”の問題があり密閉性が危惧されたが、金型と成形時の条件で解決できる範囲であると考えた。金型の製作に関しては、マイクロ流路寸法、電極形状等を最適化する必要があるため、本研究では金型の作製は見送り、プラスチック成形以外の製造方法で試作を行った。別な方法として、①傾斜櫛歯状電極付き下部基板、②マイクロ流路部、③出入口付き上部板の3重構造について検討した。それぞれの部分について試作を実施した結果を以下に記述する。

#### 3.1 櫛歯状電極付き基板

ガラス基板に金属薄膜を蒸着し、フォトリソグラフィを用いて作製する方法が一般的であり、多くの研究に用いられるデバイスもその方法で作製されている。しかしながら、コストが高く量産には向かないため、金属薄膜をレーザーにより加工する方法を検討した。ガラス基板とポリカーボネート板に薄膜電極を蒸着し、工業用レーザーにより傾斜櫛歯状電極を作製した。レーザー加工の条件は、レーザー強度、スポットの大きさ、レーザーの送り速度等を様々に変化させて検討した。その結果、ポリカーボネート板の方が、ガラス板の場合よりも電極の端が精密に作製できた。図5の(a)はポリカーボネート板上の電極、(b)はガラス板上の電極である。

#### 3.2 マイクロ流路の作製

マイクロ流路は、多くの場合、熱硬化性樹脂ポリジメチルシロキサン (PDMS) により製造されたものが報告されているが、この方法も量産が困難であるため、厚さ25  $\mu\text{m}$ の3Mマイクロ流路診断デバイス用機能性フィルム9969を用いて、レーザー加工法によりマイクロ流路を作製した。そのレーザー加工のマイクロ流路を図6に示す。レーザー加工部分は、シャープに加工され

ている。マイクロ流路の加工について、量産する場合には、レーザー加工に比べて打ち抜き加工の方が低コストと考えられ、今後検討したい。



図6 機能性フィルムのレーザー加工による流路

### 3. 3 出入口付き上部板

出入口付き上部板は、ポリカーボネート板にステンレス細管を設置したものである。

それらを組み合わせた分離デバイスを図7に示す。電極部とリード線は、導電性接着剤により固定した。マイクロ流路のある機能性フィルムは $25\ \mu\text{m}$ であり、たいへん薄いため、設置が容易ではなかった。しかし、市販品による分離実験の結果、フィルム厚さは $50\ \mu\text{m}$ の方が優れていることから、 $50\ \mu\text{m}$ にすべきである。

組み合わせた分離デバイスを用いて性能評価を実施した。現時点では、操作条件を変化させての詳細な検討は実施できていないが、ポリスチレン粒子の誘電泳動挙動を確認することができ、分離の操作条件の検討は実施中である。

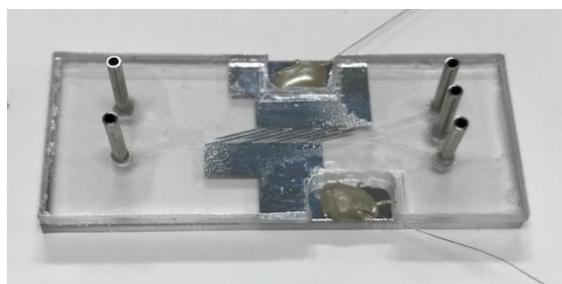


図7 傾斜楕歯状電極付分離デバイスの組立品

## 4 まとめ

本研究の目的は、誘電泳動法とマイクロ流路を組み合わせたデバイスの分離の有効

性を検証すること、および本分離デバイスを製品化・事業化するための廉価な製造方法の確立であった。本デバイスの分離の有効性は、分離効率90%の結果が得られ、更なる改善の検討は必要であるものの、実用化の可能性が示唆された。製造方法に関しても、製品化・事業化の最低レベルのハードルはクリアしたが、より廉価な製品を製造するためのプラスチック成形による検討が不可欠と考えられる。本分離デバイスをより広範な分野に展開するにはプラスチック成形による製品化が不可欠であり、その製品化のための課題の解決は必要であるが、可能性は十分にあると確信している。

---

---

群馬県立産業技術センター研究報告  
平成29年度(2017)  
平成30年11月印刷

発行 群馬県立群馬産業技術センター  
〒379-2147 前橋市亀里町884番地1  
電話 (027) 290-3030(代)  
FAX (027) 290-3040

---

---

