

# 群馬県立産業技術センター 研究報告

令和2年度

Reports of

Gunma Industrial Technology Center

2020

群馬県立産業技術センター

## 目 次

### 試験分析高度化研究

遠隔立会い依頼試験システムの構築	1
水沼一英、高田 徹、遠藤庸弘、 川端広一	
エッジコンピューティングを用いた 生産ラインへのA I組み込みに関する研究	5
高橋慶行、町田晃平	
F E - E P M Aを用いたサブミクロン領域分析技術の高度化	9
牛木龍二、石田一成、徳田敬二、 矢澤 歩、黒崎紘史	
有機材料中の微量硫黄分定量に関する検討	12
恩田紘樹、綿貫陽介	
プラントベースミートの調査研究	17
川上亮英、山田徹郎、関口昭博	

### その他研究

群馬G 2酵母の泡無し株の取り直しと高品質清酒の製造	23
渡部貴志、柳澤昌臣、櫻井 武、 吉野 功	
やよいひめ酵母を用いた地ビール醸造の実用化	29
渡部貴志、齋藤季之、倉田善弘、 柳澤昌臣、吉野 功	

# 試験分析高度化研究

## 遠隔立会い依頼試験システムの構築

水沼一英・高田徹・遠藤庸弘・川端広一\*

Construction of a remote witness request testing system

MIZUNUMA Kazuhide, TAKADA Tohru, ENDO Nobuhiro, KAWABATA Hirokazu

Web 会議システム等を利用して、通信ツールや通信回線を比較しながら、遠隔による立会い試験を試行し、可能性を検証した。

キーワード：遠隔、依頼試験

Using a web conference system, etc., we conducted a trial of remote witnessing tests, comparing communication tools and communication lines to verify the possibility.

Keywords : remote, request testing

### 1 まえがき

産業技術センターにおける EMC 関連の機器開放および依頼試験は、すべてが利用者の立会いが必要な試験となっているが、新型コロナウイルス感染防止のため職員との密接を避ける必要があり立会いありの依頼試験は実施できない。

しかし、新型コロナに関係なく企業が製造した電子機器に対して EMC 試験が必要であり、これによる企業の経営ダメージ低減策の 1 つとして、今回、立会いの必要な依頼試験を、対面なしで実現する遠隔立会い試験システムを構築し、運用することとした。

### 2 方法

#### 2.1 概要

カメラやマイクを用いたネットワーク会議システム(Web 会議システム)を利用して、必要な情報を遠隔でやり取りすることで、バーチャルな立会いによる依頼試験を実現する。

このため、利用者の協力を得ながら、下図のようなシステムを構築する。1 つは企業に

一の測定室とやり取りする方法で、もう 1 つは産技センターの別室や駐車場で測定室とやり取りする方法となる。

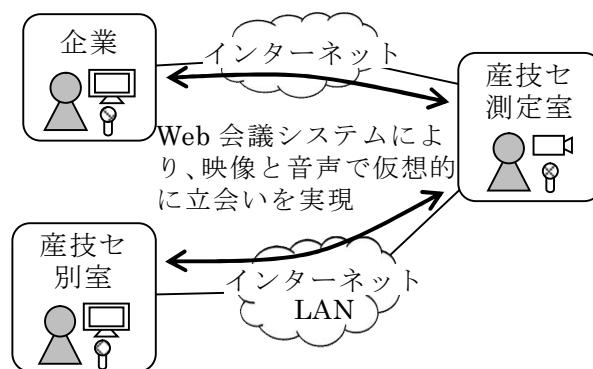


図 1 システム概要

このような方法で試行を行い、適切な運用方法や受け入れが可能な条件(被試験品の動作条件、測定条件など)を決定する。

#### 2.2 課題と解決策

EMC は EMI 測定と EMS 試験に大別できる。EMI 測定は、製品から出るノイズを測定し、限度値以下であるかどうかを判定するもので、EMS 試験は、製品にノイズを浴びせて、その耐性を判定するものである。

ここで立会いが必要である理由は、次のとおりである。

- EMI 測定 … 限度値以下であるかどうかは最終測定結果で判断する。しかし、最終

測定を実施する周波数ポイントは、自明なポイント以外は、ピーク測定結果の波形を見ながら利用者が指定する。

- EMS 試験 … ノイズ耐性は、破損した等の明確なもの以外、特に誤動作等あいまいなものを含め利用者が判定する。
- 共通事項 … 被試験品のセッティングが企業独自の場合がある。また、製品の試験運転モード(強制最大負荷運転モード等)が特殊な場合がある。

これらを遠隔による立会いで解決する場合、次の方法が考えられる。

- EMI 測定 … ピーク測定の波形を映像や画像として提示し、最終測定ポイントを決してもらおう。
- EMS 試験 … 被試験品の動作状態やノイズ強度、周波数などを試験実施中に映像や音声で継続的に伝える。
  - 情報量が多いためリアルタイム、高解像度で伝達できない可能性がある。
- 共通事項 … ウェアラブルカメラやヘッドセットを着用して、被試験品のセッティングや動作状態を遠隔でやり取りする  
ここで、EMS 試験は上述のとおりリアルタイム性や高解像度が必要なため今回は対象外とし、EMI 測定を主な対象として運用方法や受け入れ条件を確定していくこととする。

### 3 結果

#### 3.1 試行事例

遠隔による立会い依頼試験を7件実施した。このうち重複を除いた5事例をパターン分けしたものを表1に示す。相手欄は通信相手が待機していた場所で、図1の上の系統か下の系統かにより「企業」と「別室」となる。種別欄は実施した測定・試験で「EMI」はEMI測定、「EMS」はEMS試験となる。EMS試験は上述のとおり対象外としていたが、利用者の要望により実施した。通信ツール欄は、どのようなツールを利用して遠隔による立会いを行ったかで、「Zoom」は、Zoom ビデオコミュニケーションズ社<sup>1</sup>が提供するWeb会議システムのこと、後ろに括弧書きで使用した通信回線を示した。

表1 代表的な事例

No	相手	種別	通信ツール
1	別室	EMI	Zoom (携帯電話回線)
2	企業	EMI	写真等をメール 指示等を電話
3	企業	EMS	試験状況をビデオで録画し、後日確認
4	企業	EMI	Zoom (インターネット回線)
5	別室	EMI	LAN 完結型 Web 会議システム

#### 3.2 事例から見た運用方法

##### 3.2.1 使用する回線

上表の事例1は、3m 法電波暗室にて EMI 測定を行い、利用者が小型電波暗室(隣室)にて待機して実施した。通信ツールは Zoom を使用し、別室側の回線は携帯電話回線を使用した。これは外部の方は産技センターの LAN を使用することができないためである。また、測定室側の回線は、以下を試した。

- ① スマートフォン (携帯電話回線)
- ② ノート PC+有線 LAN (産技センターLAN およびインターネット)
- ③ ノート PC+WiFi (同上)

ここで、被試験品のセッティングを Zoom にて確認してもらったが、①では、遅延が多く、また測定室側は電波暗室内(扉は開いているので完全遮蔽ではない)のため携帯回線が不安定で、意思疎通もできない程であった。②では、測定室側で 20m 程度の LAN ケーブルを使用した。結果、①に比較して良好に通信を行うことができたが、LAN ケーブルの引き回しに難があった。③では、①と同様電波暗室内ではあったが、扉が開いた状態であり、また測定室に WiFi アクセスポイントが設置されていたため、体感的には②と変わらず良好であり、ケーブルレスのため操作等問題なくこなせた。

測定室側の回線の比較結果としては、①は選択肢に入らず、電波暗室の扉を広く開けることができるなら③、扉をあまり空けられないなら②という選択となる。

なお、事例1では別室側も携帯電話回線であったが、待機する部屋による電波状況の善し悪し、通信費の問題などのため、可能なら別室側でも携帯回線の使用は避けたい。

また、事例4は、事例1と同様に Zoom による通信を行ったが、待機場所は企業であり通常

のインターネット回線を使用し、測定室も通常のインターネット回線を使用したことから、遅延も少なく、意思疎通も図れ、特に問題点はなかった。このことから、両者が一般的なインターネット回線を使用する場合は、良好な通信が行える。

### 3. 2. 2 高画質静止画によるポイント指定と動作・設置手順書の必要性

事例2は、3m法電波暗室にてEMI測定を行った。企業側でZoom等のツールが使えないため、ピーク測定の波形画像をメールに添付して送信した後、電話により両者で同じ波形を参照しながら最終測定ポイントを決定したり、波形画像に矢印等で最終測定ポイントを追加した画像をメールにて返信することで、やり取りした。

Zoom等のWeb会議システムに比べて、画像添付のメールでは、高画質な画像を送受信することができるため、波形等細かい部分を確認するような用途に適している。

また、この事例2では、被試験品の動作モードが特殊であったが、事前に手順書を作成してもらったので、設置や動作方法など問題なく行うことができた。セッティングや動作が特殊である場合、その場でのやり取りではなく、事前の打ち合わせや手順書の作成が必要である。

### 3. 2. 3 EMS試験の可能性

事例3は、小型電波暗室にてEMS試験を実施した。前述のとおりEMS試験は、今回の研究では対象外ではあったが、利用者が急ぎで必要だったため実験的に実施した。

実際に行ったのは放射イミュニティ試験で、小型電波暗室にてアンテナからノイズとなる電波を照射し、被試験品が誤動作するかを判断する試験である。また、誤動作した場合、誤動作した周波数を同時に記録することが肝要で、後日、その周波数に対する対策を施す。

しかしながら、産技センター職員では誤動作かどうかの判定が行えない。そこで、電波暗室内の被試験品を監視するカメラ映像と試験制御PCの画面(現在の周波数等が表示される画面)の両者が同時に映り込むようにビデオカメラで録画し、その録画データを利用者へ渡し、後日、録画データから誤動作を判定

してもらうこととした。

EMS試験は、この事例に限らず、被試験品の状態と現在の試験データ(周波数など)を同時に閲覧できることが重要で、ビデオカメラによる録画は1つの解となり得る。

### 3. 2. 4 LAN完結型Web会議システム

事例5は、3m法電波暗室にてEMI測定を行い、利用者は小型電波暗室で待機した。通信ツールは、オープンソースソフトウェアのLAN完結型Web会議システム<sup>2</sup>を使用した。これは、3. 2. 1にあった「外部の方が産技センターLANを使用できないためにインターネット回線によるZoomが使用できなかった問題」を解決する方法である。

具体的には、以下のようなシステムである。

- ① 測定室(3m法電波暗室)と別室(小型電波暗室)で独立したネットワーク(LAN)を構築(産技センターLANとは全く別となる)
- ② そのLANにサーバ機を設置し、LAN完結型Web会議システムを動かす
- ③ 測定室と別室間で、Web会議システムによる通信を行う

これにより、産技センターLANとは全く別の独立したLANにて、外部の方も接続でき、低遅延、高画質な通信が行える。

なお、このシステムを評価するため、遅延時間の比較を行った。結果を以下に示す。

この結果より、別室待機の場合、LAN完結型が利用可能なら、積極的に利用する。

表2 遅延時間の比較(単位:秒、100回試行)

	Zoom(携帯回線)	Zoom(インターネット)	LAN完結型
平均	1.0	0.9	0.2
最小	0.4	0.5	0.1
最大	9.4	8.0	0.8
標準偏差	1.8	0.9	0.1

## 3. 3 今後の展開

### 3. 3. 1 正式運用

正式運用に向けては、受け入れのための条件を、ここで得た知見を元に整理し、明文化する。そして、それを含めたPRコンテンツを作成して産技センターホームページ等により広報する。

受け入れ条件は、たとえば次のような項目を考慮する。

- 被試験品に関して … 運転方法(特殊かどうか)、サイズ、重量など
- 測定方法に関して … セッティング方法、適用規格、測定周波数など
- 手順書の作成 … 有・無
- 通信ツール、回線に関して … Web 会議システムやメールの利用の可・否、回線種別など
- 待機場所 … 企業・産技センター

### 3. 3. 2 EMS 試験

今後、EMC での遠隔立会いを拡張するため、EMS 試験についても試行する。その際、次のような観点で評価する。

- ビデオ録画等対応可能か
- Web 会議システムが対応可能か
- 電話等音声のみで可能か

なお、ビデオ録画や Web 会議システムを使用する場合、同時に複数の情報を 1 画面に収める必要があるため、この方法を検討する。

### 3. 3. 3 他係への展開

遠隔による立会い試験を他の係へ展開する。このため、以下を行う。

- 機器貸し出しリストの作成
- ノウハウのまとめ
- 手順書の作成

## 4 まとめ

今回、通信ツールや通信回線を比較しながら、遠隔による立会い依頼試験の試行を行い、知見を得た。今後は正式運用や他係への展開のために、受け入れ条件の明文化やノウハウのまとめを実施し、企業のさらなる利便性向上に努める。

## 参考

- 1) Zoom : <https://zoom.us/>
- 2) Jitsi : <https://desktop.jitsi.org/>

# エッジコンピューティングを用いた生産ラインへの AI 組み込みに関する研究

高橋慶行・町田晃平\*

Embedding AI in production line using edge computers

TAKAHASHI Yoshiyuki, MACHIDA Kohei

AI 外観検査導入における装置の低コスト化と処理安定化のため、エッジコンピュータとオープンソース AI を活用した AI 外観検査を提案する。本研究では、エッジコンピュータとして NVIDIA Jetson シリーズ、オープンソース AI として YOLO v3 を用いた AI 外観検査装置を試作開発した。Jetson Nano と Jetson Xavier NX の推論速度の比較を行い、512×512 の画像において、それぞれ 1.28 秒と 0.33 秒の結果を得た。今後は、本技術を県内中小企業の生産ラインへ展開する。

キーワード：エッジコンピューティング、深層学習、外観検査

We propose AI visual inspection using edge computers and open source AI in order to reduce the cost of system and stabilize processing when introducing AI visual inspection. In this work we developed a prototype of AI visual inspection system using NVIDIA Jetson series as an edge computer and YOLO v3 as an open source AI. We obtained inference speeds of 1.28 sec and 0.33 sec on Jetson Nano and Jetson Xavier NX respectively for 512×512 images. We will apply this technique to the production lines of small and medium-sized enterprises within this prefecture.

Keywords : Edge Computing, Deep Learning, Visual Inspection

## 1 まえがき

群馬産業技術センターでは、製造業における外観検査の効率化や高精度化のため、AI（ディープラーニング）外観検査の導入を進めてきた。

AI 外観検査には、AI 推論速度を高速化するため、ハードウェアとして GPU (Graphics Processing Unit) が必要となる。これまでは、AI 外観検査装置の処理部に、GPU を搭載したデスクトップ PC を使用してきた。しかし、GPU 搭載 PC を使用すると、装置のコストが高くなる、広い設置スペースが必要となる、連続処理が不安定になる、などの問題が発生する。一方、近年はネットワーク端点での処理が可能なエッジコンピュータが登場してきた。エッジコンピュータの中には、AI 推論処

理が可能となるように GPU を搭載したのものも存在する。エッジコンピュータの特徴として、コストが低い、筐体が小さい、安定した高速連続処理が可能、といったことが挙げられる。

また、AI 外観検査のソフトウェアとしては、市販の AI 画像解析ソフトウェアを使用してきた。市販のソフトウェアは、操作性や性能の面で AI 初学者でも使いやすいが、初期導入コストが非常に高く、維持費がかかるものもあり、コストの面で AI 外観検査導入を妨げる大きな要因となっていた。一方、目的を問わず無償でソースコードを利用可能なオープンソースの AI ソフトウェア（ライブラリ）が多数公開されている。これらのオープンソース AI を活用することで、AI 外観検査のコストを大きく下げることができると期待される。

そこで本研究では、AI 外観検査の低コスト化と処理安定化のため、エッジコンピュータとオープンソース AI を活用した AI 外観検査装置の



開発を行う。また、各エッジコンピュータの処理速度を比較し、性能差を明らかにする。

## 2 方法

### 2.1 エッジコンピュータ

本研究では、エッジコンピュータとして NVIDIA 社製 Jetson シリーズを使用した。Jetson は、組み込み AI システム向けのシングルボードコンピュータである (図 1)。AI 処理を高速に行うために GPU を搭載し、他にも CPU や PMIC、DRAM、フラッシュストレージなどを備えている。現在、Jetson シリーズには 4 つの機種が存在する。本研究では、低コストの 2 機種である Jetson Nano と Jetson Xavier NX を使用した。

Jetson の開発には、JetPack SDK を使用した。JetPack SDK は、NVIDIA 社が提供している Jetson 用の開発キットである。ディープラーニングや画像処理のライブラリ、AI 処理を高速化するための環境などが含まれている。JetPack SDK で提供される OS は、Linux ベースの OS である。JetPack SDK は、Jetson で使用する SD カードに書き込むことで使用できる。本研究で用いた JetPack は、JetPack 4.4 である。

Jetson 内部のプログラムは、Python を用いて開発した。Python は JetPack にあらかじめインストールされている。



図 1 NVIDIA Jetson

### 2.2 I/O 制御

Jetson の汎用入出力 GPIO (General

Purpose Input/Output) を用いた I/O の動作確認を行った。GPIO はデジタル信号の入出力を行うためのピンである。AI 外観検査装置においては、撮像トリガ信号の入力や AI 判定結果信号の出力、PLC との連携などに使用される。

Jetson では、NVIDIA 社より提供されている Jetson GPIO ライブラリパッケージをインストールすることにより、Python から GPIO の 40 ピンヘッダを制御することが可能となる。

本研究では、ブレッドボードを用いた回路と GPIO を接続し、GPIO の動作確認を行った (図 2)。本実験では、回路のスイッチが押されると GPIO に信号が入力され、その信号をトリガとして Jetson 内部のプログラムが GPIO から信号を出力し、LED を点灯できることを確認した。

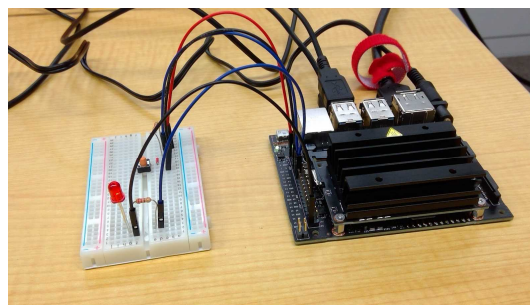


図 2 I/O の動作確認

### 2.3 産業用カメラ制御

Jetson による産業用カメラの動作確認を行った。産業用カメラには、IDS 社製の 5 メガピクセル USB 3 カメラ UI-3280CP-C-HQ Rev.2 を使用した (図 3)。IDS 社製の産業用カメラを Jetson から制御するには、IDS 社が提供しているソフトウェアパッケージ IDS Software Suite を Jetson にインストールする必要がある。

また、IDS 社より提供されている Python 用ラッパの PyuEye モジュールをインストールすることにより、Python から IDS 社製の産業用カメラを制御することが可能となる。さらに、オープンソースの画像処理ライブラリである OpenCV-Python を組み合わせることで、カメラの映像を画像ファイルとして保存することが可能となる。

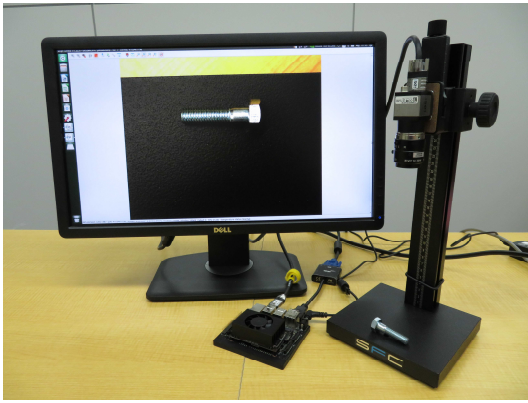


図3 産業用カメラの動作確認

## 2. 4 オープンソース AI

オープンソース AI には YOLO<sup>1)</sup> を用いた。YOLO はオープンソースで開発された物体検出アルゴリズムである。YOLO に画像を入力すると、YOLO は検出した物体の矩形領域とその物体の種別（クラス）を出力する（図4）。YOLO は、画像とそれに対応する物体の領域とクラスを記述したアノテーションデータを用意すれば、独自のデータセットにて学習が可能である。

YOLO は現在までに複数の改良版が発表されている。本研究では YOLO v3<sup>2)</sup> を使用した。

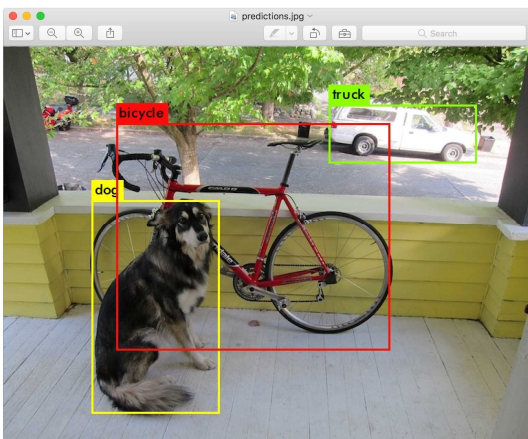


図4 YOLO の検出の様子（引用：  
<https://pjreddie.com/darknet/yolo/>）

## 2. 5 AI 推論速度の比較

NVIDIA Jetson Nano および NVIDIA Jetson Xavier NX にて、YOLO v3 の推論速度の比較評価を行った。

評価用のデータセットには、MVTec AD

<sup>3)</sup> を用いた。MVTec AD は工業製品の画像検査向けに作られた異常検知データセットである。15 カテゴリの工業製品からなり、それぞれに良品画像と複数モードの欠陥画像、さらに欠陥領域を図示したアノテーション画像を収録している。本来、MVTec AD は教師なし学習の異常検知を目的としたデータセットであるが、本研究では教師あり学習の YOLO v3 にて使用した。

本研究では、MVTec AD に収録されているカテゴリのうち Screw のデータを使用した。画像は、元サイズである 1024×1024 から 512×512 にリサイズして使用した。Screw のデータには、5 種類の欠陥モード（manipulated front、scratch head、scratch neck、thread side、thread top）が含まれている。本研究では、5 種類の欠陥画像と良品画像につき、それぞれ 15 枚ずつの計 90 枚の画像を学習に使用した。教師画像は、Microsoft 社が提供するオープンソースのアノテーションソフトウェア VoTT を使用して、人手でアノテーションを行った（図5）。

推論速度は、480 枚（良品画像 361 枚、欠陥画像 119 枚）の画像を YOLO v3 で推論した際の各画像の推論時間の平均により算出した。

本実験において、Jetson Nano と Jetson Xavier NX の Power Mode は、それぞれ MAXN と 15W 6CORE とした。また、それぞれ CLI（Command Line Interface）モードにて推論を行った。さらに、参考としてデスクトップ PC（ドスパラ社製 GALLERIA ZZ-SLI、CPU：Intel Core i7-7700K、CPU：NVIDIA GeForce GTX 1080Ti、RAM：32 GB）でも推論速度を算出した。

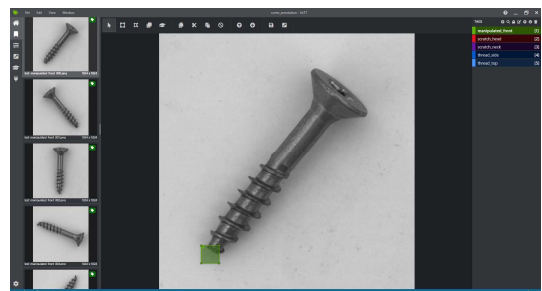


図5 欠陥領域のアノテーション

表 1 AI 推論速度

	Jetson Nano	Jetson Xavier NX	デスクトップ PC
推論速度	1.28 sec	0.33 sec	0.04 sec
CPU	ARM A57	ARM v8.2	Intel Core i7
GPU	Maxwell 128 コア	NVIDIA Volta 384 コア Tensor コア 48 基	NVIDIA GeForce GTX 1080Ti
RAM	4 GB	8 GB	32 GB

### 3 結果

試作開発した AI 外観検査装置を図 6 に示す。本 AI 外観検査装置は、対象ワークをベルトコンベアに載せて撮像位置まで移動させる。その後、産業用カメラにてワークの撮影を行い、Jetson にて YOLO v3 の推論を行う。モニタには、YOLO v3 の検出結果と OK/NG の判定結果が表示される。判定結果は、YOLO v3 にて欠陥領域が検出されれば NG、検出されなければ OK とした。

各エッジコンピュータにおける YOLO v3 の推論速度の比較結果を表 1 に示す。表 1 には、参考に各機種のスぺックを付記している。表 1 のように、Jetson Xavier NX を用いることで、1 画像あたり約 0.33 秒で YOLO v3 の推論が可能である。なお、Jetson Nano では、GUI (Graphical User Interface) モードで YOLO v3 の推論を行った場合、メモリ不足により、推論を実行できない場合が確認された。

学習に用いていない欠陥画像を YOLO v3 で推論した結果の例を図 7 に示す。図 7 のように、YOLO v3 により欠陥の検出が可能であることを確認した。

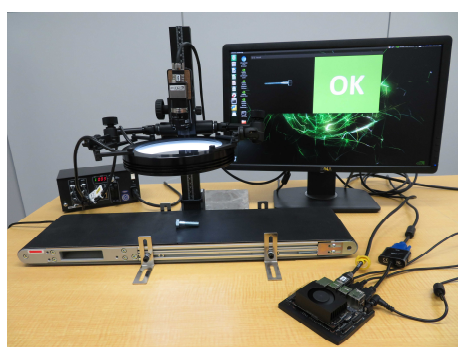


図 6 AI 外観検査装置



図 7 AI の推論結果

### 4 まとめ

NVIDIA Jetson シリーズと YOLO v3 を用いた AI 外観検査装置を開発した。YOLO v3 の推論速度は、512×512 の画像において、Jetson Nano で 1.28 秒、Jetson Xavier NX で 0.33 秒であった。推論速度やメモリ、コストの面から判断すると、現場の生産ラインには Jetson Xavier NX を使用した AI 外観検査装置が有用であると考えられる。今後は他のオープンソース AI の実装も進めるとともに、本技術の県内中小企業への展開を進める。

### 文 献

- 1) Joseph Redmon ほか : You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection, CVPR, pp. 779-788(2016)
- 2) Joseph Redmon ほか : YOLOv3: An Incremental Improvement, arXiv preprint, arXiv:1804.02767(2018)
- 3) Paul Bergmann ほか : MVTEC AD -- A Comprehensive Real-World Dataset for Unsupervised Anomaly Detection, CVPR, pp. 9592-9600(2019)

# FE-EPMA を用いたサブミクロン領域分析技術の高度化

牛木龍二・石田一成・徳田敬二・矢澤歩・黒崎紘史

Advancement of submicron area analysis using FE-EPMA

USHIKI Ryuji, ISHIDA Kazushige, TOKUDA Keiji, YAZAWA Ayumu, KUROSAKI Hirofumi

2020年に導入の電界放射型電子線マイクロアナライザー (FE-EPMA) の性能を把握するため、その空間分解能を評価した。通常の元素分析条件においては、FE-EPMA は、熱電子銃の従来機器よりも30～40%優れる空間分解能を有することが分かった。FE-EPMA を用いて、割れが発生したオーステナイト系ステンレス鋼の面分析を実施したところ、従来機器では観察が困難であった鋭敏化 (結晶粒界に沿ったクロムの欠乏層とクロム化合物の析出) が確認できた。

キーワード : FE-EPMA、空間分解能、照射電流

Spatial resolution tests were conducted in order to understand the performances of the field-emission electron probe micro analyzer (FE-EPMA), which was introduced to our laboratory in 2020. The FE-EPMA was found to have 30 - 40 % higher spatial resolution compared to the conventional EPMA with thermal electron gun under normal elemental analysis conditions. A FE-EPMA mapping analysis for the cracks in an austenite stainless steel plate showed a sensitization (i.e. chromium deficiency as precipitation of chromium compounds along crystal grain boundaries), which was difficult to observe by the conventional EPMA.

Keywords : FE-EPMA, spatial resolution, beam current

## 1 まえがき

電子線マイクロアナライザー (EPMA : Electron Probe Microanalyzer) は、固体試料に細く絞った電子線を照射し、試料から発生する二次電子や反射電子を検出することで表面微小部の形態を観察し、特性 X 線を検出することで組成や元素の分析をする装置である<sup>1)</sup>。特に電界放射型 (FE : Field Emission) 電子銃を搭載した EPMA (FE-EPMA) は、高空間分解能であることが特徴であり、従来の熱電子銃を搭載した EPMA では困難であったより微小な領域の分析が可能である。群馬産業技術センターでは、2019年度に FE-EPMA (島津製作所製、EPMA 8050G) を導入し、県内企業への更なる技術支援を進めているところである。そこで本研究では、FE-EPMA の有効性と限界を確認するため、まず FE-EPMA において元

素分析条件での空間分解能を把握した。さらに従来機種では困難であった数百 nm レベルの微小領域を分析した事例を紹介する。

## 2 実験方法

### 2.1 装置

FE-EPMA には島津製作所製 EPMA8050G (Schottky エミッター電子銃) を使用し、従来機器には島津製作所製 EPMA1610 (CeB<sub>6</sub> 電子銃) を使用した。

### 2.2 空間分解能の測定

#### 2.2.1 Ni-Cr 界面の線分析

鉄上に銅(Cu)、ニッケル(Ni)、クロム(Cr)をメッキした調整用試料の Ni-Cr 界面で線分析を行い、得られた Ni の最大強度の 84%と 16%の距離を測定 (図1)、これを空間分解能とした。この時加速電圧は 15kV 一定とし、照射電流 10nA、50nA 及び 100nA での空間分解能を測定した。

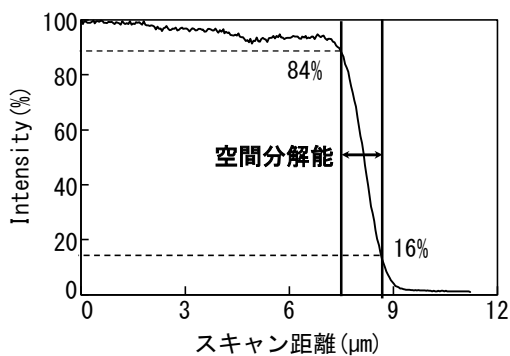


図1 空間分解能の定義

### 2. 2. 2 金微粒子の面分析

シリコンウエハに金(Au)蒸着を施したものを測定試料とした。測定は、電子線加速電圧 15 kV、照射電流 10 nA、積分時間 5 msec/point でビームスキャン法による反射電子及び Au のマッピングを行った。

### 2. 3 微小領域の分析事例

#### 2. 3. 1 ステンレス鋼の面分析

図2のように割れが発生したオーステナイト系ステンレス鋼を導電性フェノール樹脂で樹脂包埋し、鏡面研磨したものを測定試料とした。測定は FE-EPMA を用いて、電子線加速電圧 15 kV、照射電流 50 nA、積分時間 100 msec/point でビームスキャン法による二次電子及び Cr のマッピングを行った。

#### 2. 3. 2 微小領域の元素状態分析

アルミニウム(Al)製品の正常部及び黒色変色部を測定箇所とした。測定は FE-EPMA を用いて、電子線加速電圧 15 kV、照射電流 50 nA とし、状態分析法により Al K $\alpha$  線のサテライト (Al-sK $\alpha$ ) を測定した。

## 3 結果

### 3. 1 空間分解能の比較

§2.2.1 の方法により測定した FE-EPMA 及び従来機器の加速電圧 15kV での空間分解能を表1に示す。FE-EPMA の空間分解能は、10nA の時には 44%、50nA の時は 36%、

表1 各照射電流での空間分解能

	10nA	50nA	100nA
FE-EPMA	0.50 $\mu\text{m}$	0.62 $\mu\text{m}$	0.71 $\mu\text{m}$
従来機器	0.88 $\mu\text{m}$	0.97 $\mu\text{m}$	1.01 $\mu\text{m}$

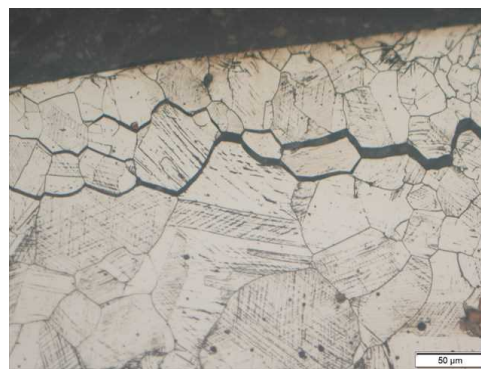


図2 割れが発生したオーステナイト系ステンレス鋼の金属顕微鏡像

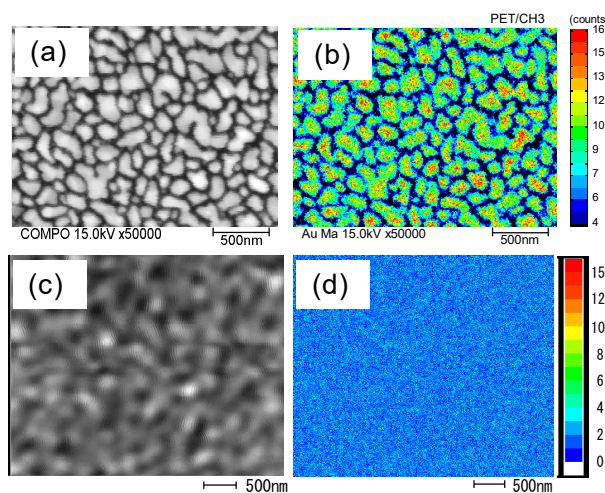


図3 FE-EPMA における(a)反射電子像、(b)Au マッピング及び従来機器における(c) 反射電子像、(d) Au マッピング

100nA の時には 30%向上した。なお、この空間分解能は、試料内における X 線発生領域(電子線のビーム径と試料内における電子線の拡散)を反映したものである。元素分析において、ピーク強度の比較等の定量的な議論を行う際の目安となる。また、§2.2.2 の方法で測定した反射電子及び Au のマッピング結果を図3に示す。従来機器の反射電子像及び Au マッピングでは、Au 微粒子を確認できないのに対し、FE-EPMA の反射電子像及び Au マッピングでは、Au 微粒子をはっきり確認できた。この Au 微粒子のような小さな試料のマッピング分析においては、FE 電子銃の小さなビーム径により<sup>1)</sup>、数十 nm の形状をとらえることが出来ることが分かった。

### 3. 2 ステンレス鋼の面分析

§2.3.1 の方法で測定したステンレス鋼の二次電子像及び Cr マッピング像の結果を図4に示

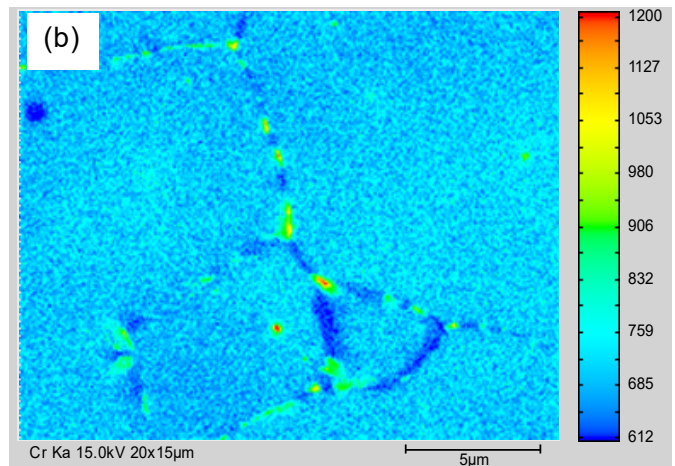
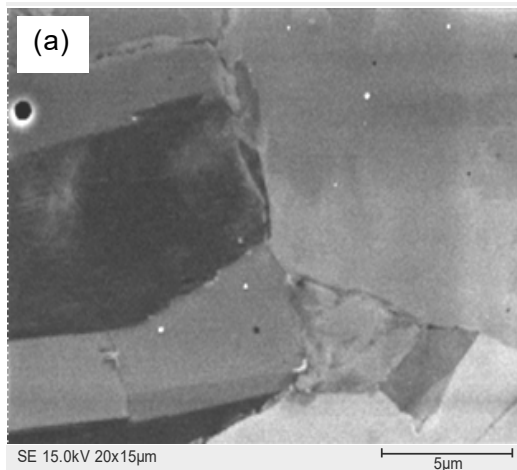


図4 割れが発生したオーステナイト系ステンレス鋼の面分析  
 ((a)二次電子像、(b)Cr マッピング像)

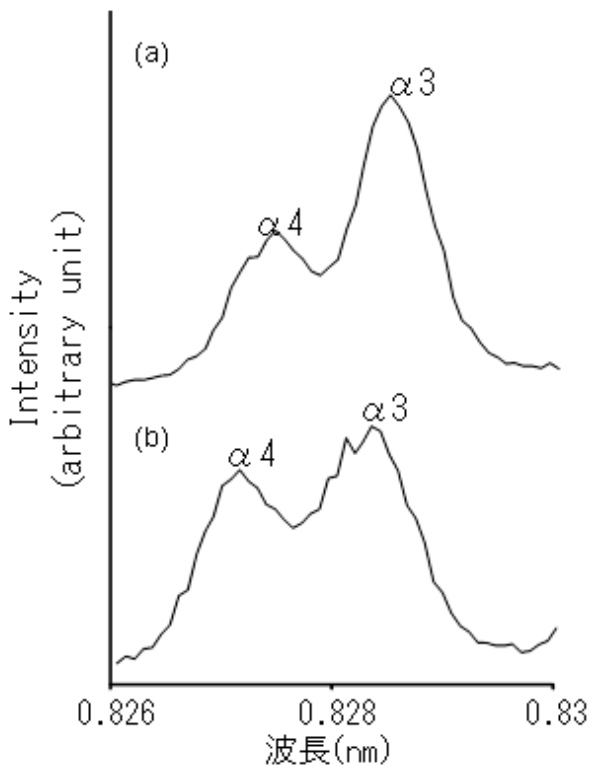


図5 Alの化学状態分析  
 ((a)正常部の Al-sKa、(b) 黒色変色部の Al-sKa)

す。Cr マッピング像において、結晶粒界に 1 μm から数百 nm 程度の大きさの Cr 濃度が高い部分が存在する一方で、その周辺では Cr 濃度が減少している領域が見られた。

ステンレス鋼では、結晶粒界に Cr 炭化物が析出することにより、結晶粒界周辺の Cr 濃度が減少し、結晶粒界周辺の耐食性が落ちる（鋭敏化）ことが知られている<sup>2)</sup>。今回の FE-EPMA を用いた観察結果から、

本試料の割れの原因は鋭敏化による応力腐食割れであると考えられた。

### 3.3 Alの化学状態分析

§2.3.2の方法で測定した Al 製品の正常部及び変色部の Al-sKa スペクトルを図5に示す。正常部では Al-sKa<sub>3</sub> と Al-sKa<sub>4</sub> の比 ( $\alpha_4/\alpha_3$ ) が 0.53、黒色変色部では 0.88 だった。

Al の Al-sKa において、 $\alpha_4/\alpha_3$  が 0.7 程度より小さい場合には金属、ほぼ 1 であれば酸化物であることが報告されている<sup>3)</sup>ことから、今回測定した Al 製品の黒色変色部は酸化物であることが考えられた。この手法を用いると数 μm ~ 数百 nm レベルの微小領域において金属か酸化物であるかの情報を取得することが可能となる。

## 4 まとめ

FE-EPMA の各照射電流での空間分解能が把握でき、元素分析条件における FE-EPMA の空間分解能は、従来機器と比較して 30 ~ 40% 向上したことが分かった。また、従来機器では分析が困難だった数百 nm レベルの微小領域の分析ができた。今後はさらに微小領域の分析データを蓄積する予定である。

## 文献

- 1) 坂前浩ほか：顕微鏡 Vol. 50, No.1(2015)
- 2) 内田仁ほか：材料 36(405), 610-616(1987)
- 3) 副島啓義：電子線マイクロアナリシス、日刊工業新聞社

## 有機材料中の微量硫黄分定量に関する検討

恩田紘樹・綿貫陽介

An attempt to quantify the trace sulfur content in organic material

ONDA Koki and WATANUKI Yosuke

本研究では、有機元素分析装置とイオンクロマトグラフ分析装置を用いた有機材料中に含まれる微量硫黄分の定量技術の確立に取り組んだ。有機元素分析装置によって試料中の硫黄分を燃焼、還元して  $\text{SO}_2$  に変換し、1%過酸化水素水に  $\text{SO}_4^{2-}$  として捕集した後、イオンクロマトグラフ分析によって捕集液中の  $\text{SO}_4^{2-}$  濃度を測定する精密分析系では、試料中に含まれる ppm オーダーの硫黄分を相対誤差 5%以下で定量できた。また、試料中の硫黄分を燃焼、還元により生成した  $\text{SO}_2$  をガスバックに捕集し、ガス検知管を用いて  $\text{SO}_2$  濃度を測定するラフ分析系では、試料中のおおよその硫黄量を把握し、精密分析系に供する試料量を決定することができた。このように、本研究で開発した微量硫黄分析システムによって、有機材料中の硫黄分を ppm オーダーで定量できることが示唆された。

キーワード：有機材料、微量硫黄、有機元素分析、イオンクロマトグラフ

In order to establish the method for quantifying trace sulfur content in organic material, the sulfur component in sample was exchanged to  $\text{SO}_2$  by combustion and reduction in elementary analyzer, and  $\text{SO}_2$  was collected in 1% of  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution as  $\text{SO}_4^{2-}$ . After that, the concentration of  $\text{SO}_4^{2-}$  in the solution was measured by ion chromatographic analysis. As a result, ppm order of sulfur content in organic material could be quantified within  $\pm 5\%$  of relative error by such a precision analysis. In addition, the sulfur content could be comprehended approximately by gas detector tube method to determine the sample amount for providing the precision analysis. Finally, these results suggested that the technique of quantifying the ppm sulfur content in organic material could be established by using the analysis system developed in this study.

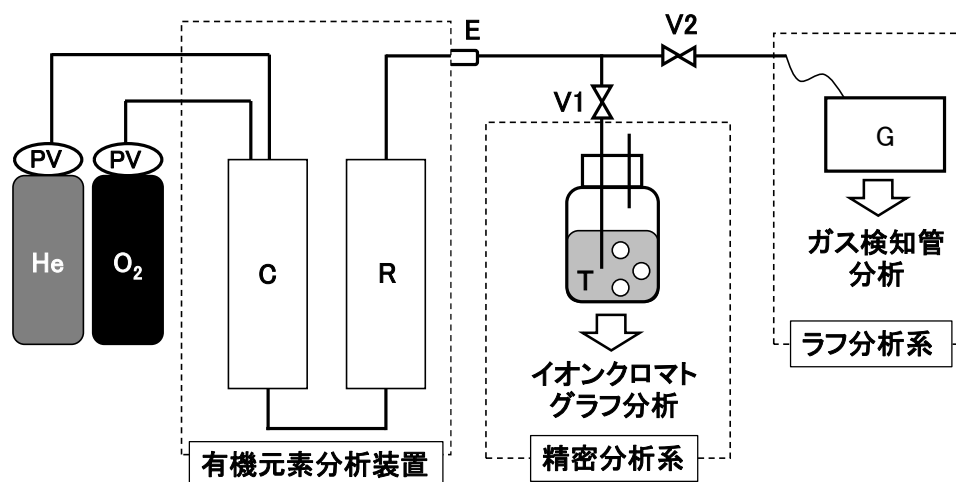
Key words : organic material, trace sulfur content, elementary analysis, ion chromatographic analysis

### 1 はじめに

金属製品を段ボールや包装紙といった梱包材内で保管した際、梱包材に含まれる微量の硫黄分による金属腐食がしばしば問題となる<sup>1)</sup>。また、硫黄系添加剤を含有したプラスチック廃棄物を焼却処理する場合には、これら添加剤由来の硫黄分が硫酸化物として環境中に放出されるため、大気汚染の原因となることが懸念される<sup>2)</sup>。また、昨今の環境規制の強化や製品の品質管理の

観点からも上記材料に含まれる微量硫黄分の分析は必要不可欠であり、電気・電子、自動車、廃棄物処理をはじめ、様々な業界からの問い合わせが増えている。

従来、有機材料中に含まれる硫黄分の分析方法の一つに有機元素分析装置が挙げられる。これは、試料を燃焼し、生成する  $\text{SO}_2$  を熱伝導度型ガスクロマトグラフにより定量する方法であるが、ppm オーダーの硫黄分を正確に定量することは困難である。そこで本研究では、有機元素分析装置とイ



PV:調圧弁 C:燃焼管 R:還元管 E:分解生成ガスベント T:捕集液  
G:ガスバック V1、V2:ボールバルブ

図1 微量硫黄分析システムの模式図

オンクロマトグラフ分析装置を組合わせた微量硫黄分析システムを構築し、有機材料に ppm オーダーで含まれる硫黄分の定量分析を試みたので報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 試料

ジメチルスルホキシド(DMSO)(富士フィルム和光純薬製、特級)をエタノール(富士フィルム和光純薬製、特級)に溶解し、硫黄含量が所定の濃度となるように調製し、これを標準試料とした。また、実試料として用いたパルプ製品は市販の段ボールおよび包装紙(以下、それぞれ段ボールおよび包装紙と記載)を用いた。

### 2-2 微量硫黄定量システム

本研究で作製した微量硫黄定量装置の模式図を図1に示す。燃焼管には内径 28mm の石英ガラス管(Elementar 製、S11.00-1150/4)に燃焼触媒として  $\text{WO}_3$ (Elementar 製、S11.02-0017)を充填し、測定時には He を 200ml/min で流通しながら 1150°C に昇温した。還元管には燃焼管と同型の石英ガラス管を用い、還元剤として還元銅(Elementar 製、S05 000 699)を充填し、測定時には 850°C に昇温した。試料は錫カプセルで包み、有機元素分析装置に供した。また一回の分析に供する試料重量は 5mg 以下とし、それ以上の試料量が必要な場合

には、錫カプセルで包んだ試料を複数作製してそれぞれ分析に供した。また、試料燃焼時、 $\text{O}_2$  を 28ml/min で 70 秒間供給し、試料の燃焼、還元で生成した  $\text{SO}_2$  を含む分解ガスはキャリアガスである He とともに分解生成ガスベントより排出した。なおこの時、出口ガス流量は 0.2l/min となるように He 流量を調整した。

精密分析を行う場合には V1 を開けて、V2 を閉じた状態にすることで出口ガスを捕集液(1%過酸化水素水)30ml に通じ、 $\text{SO}_4^{2-}$ として捕集した。

捕集液の  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度測定にはイオンクロマトラフ装置(ICS-1600、サーモフィッシャーサイエンティフィック製)を使用した。検出器は電気伝導度検出器、陰イオン分離カラムは IonPack AS22、溶離液は  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  と  $\text{NaHCO}_3$  の混合溶液を使用した。なお、分析に供した捕集液量は 25 $\mu\text{l}$ とした。

また、試料中の硫黄量は以下の式より算出した。

$$S = \frac{(A-B)VM_s}{MW} \dots \textcircled{1}$$

この時、S は試料中の硫黄濃度(wt. ppm)を、V は捕集液量(ml)を  $M_s$  は硫黄の原子量を、M は  $\text{SO}_4^{2-}$ の分子量を、W は試料重量(g)を、A は錫カプセルに入った試料を有機元素分析装置で燃焼、還元した時にお



ける捕集液の  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度( $\mu\text{g/ml}$ )を、B は試料が DMSO/エタノール溶液の場合にはエタノールのみを入れた錫カプセルを、それ以外の場合は錫カプセルのみを有機元素分析装置で燃焼、還元した時における捕集液の  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度( $\mu\text{g/ml}$ )をそれぞれ表す。このため、式①中の(A-B)は標準試料におけるDMSO 由来  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度や実試料における試料由来  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度を意味している。

一方、ラフ分析を行う場合には、V1 を閉じて、V2 を開けた状態にし、 $\text{SO}_2$  をガスバック中に捕集した。捕集ガス中の  $\text{SO}_2$  濃度はガステック製ガス検知管(No.5LC)を用いて測定し、ガス捕集時間と出口ガス流量から得られたガスバック中のガス量を基に、試料中のおおよその硫黄量を下記の式②により算出した。

$$S' = \frac{CQtMs}{22.4W} \dots \textcircled{2}$$

この時、 $S'$ は試料中のおおよその硫黄含量(wt. ppm)を、Cはガスバック中の標準状態換算  $\text{SO}_2$  濃度( $\mu\text{l/l}$ )を、Q は出口ガス流量( $\text{l/min}$ )を、t は試料を有機元素分析装置に供してからガスバックに捕集されるまでの時間(min)をそれぞれ表す。

### 3 結果および考察

#### 3. 1 微量硫黄定量装置の測定精度

図1に示した微量硫黄定量装置のうち、精密分析系の測定精度について検証するため、硫黄濃度が 115、289、577、769 および 1154 wt. ppm となるように調製したDMSO/エタノール溶液 30mg を精密分析系に供した。その結果、表1に示すように、DMSO/エタノール溶液中の硫黄濃度が 115、289、577、769 および 1154 wt.ppm の時、捕集液中の DMSO 由来  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度はそれぞれ 0.36、0.83、1.77、2.20 および 3.31 $\mu\text{g/ml}$  だった。

式①により DMSO/エタノール溶液中の硫黄濃度が 115、289、577、769 および 1154 wt.ppm の時、実測の試料中硫黄濃度はそれぞれ 120、275、592、735 および 1102 wt.ppm であり、相対誤差はそれぞれ

表 1 精密分析系による硫黄分定量

標準試料の硫黄濃度 (wt. ppm)	DMSO由来 $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	実測した硫黄濃度 (wt. ppm)
115	0.36	120
289	0.83	275
577	1.77	592
769	2.20	735
1154	3.31	1102

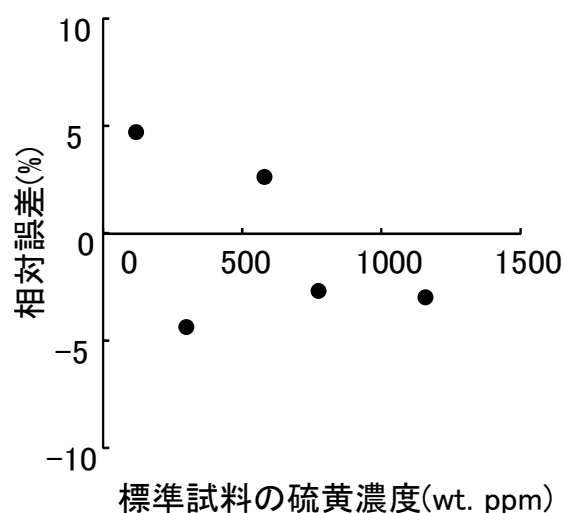


図 2 精密分析系の相対誤差

4.8、-4.5、2.5、-2.8 および-3.1%だった。このように、本研究で構築した微量硫黄の精密分析系により、相対誤差 5%以下の範囲で有機材料中の ppm オーダーの硫黄分を定量できることが示された。

#### 3. 2 試料中のおおよその硫黄量把握

本研究で用いたイオンクロマトグラフ分析装置の  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度の検量線範囲は 0.1~10  $\mu\text{g/ml}$  である。このため、精密分析系による試料中の硫黄分分析を行う際には、捕集液中の  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度が上記範囲内に収まるような試料量を決定する必要がある。そこで図1中に示されたラフ分析系により試料中のおおよその硫黄量を把握することとした。

DMSO/エタノール溶液中の硫黄含量が 484、1000、2000、4000、8000 および 10000 wt.ppm となるように調製した DMSO/エタノール溶液 5mg をラフ分析系に供した時の試料中の硫黄量を表2に示す。

DMSO/エタノール溶液の硫黄濃度が 100、484、1000、2000、4000、8000 および 1000

表2 ラフ分析系による硫黄分定量

標準試料の硫黄濃度 (wt. ppm)	捕集ガスのSO <sub>2</sub> 濃度 (μl/l)	おおよその硫黄濃度 (wt. ppm)
100	0.7	136
484	1.1	640
1000	2.3	1340
2000	4.6	2600
4000	9.8	5600
8000	17.9	10200
10000	24.2	13800

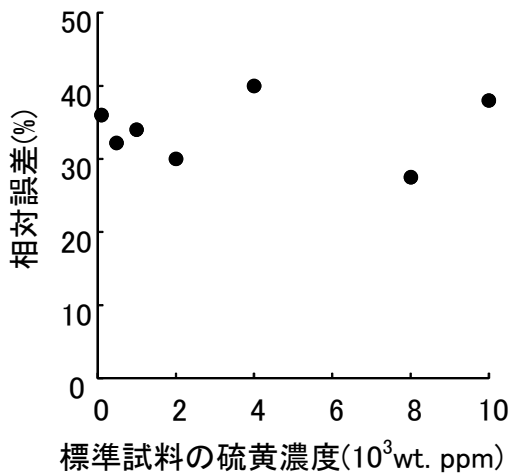


図3 ラフ分析系の相対誤差

0wt.ppm の時、捕集したガスバック中の S O<sub>2</sub> 濃度はそれぞれ 0.7、1.1、2.3、4.6、9.8、17.9、24.2μl/l だった。

式②より試料中のおおよその硫黄濃度はそれぞれ 136、640、1340、2600、5600、10200 および 13800wt. ppm であり、相対誤差はそれぞれ 36、32、34、30、40、28 および 38% だった。このように、精密分析系と比較するとラフ分析系では相対誤差は大きくなる傾向が見られた。これは、ガスバック中の SO<sub>2</sub> 濃度はガス検知管の変色程度を基に目視で測定されるためと考えられた。

精密分析系における捕集液の SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度はイオンクロマトグラフ分析の SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>検量線範囲(0.1~10μg/ml)の必要があることから、以下の式が成り立つ。

$$0.1 \leq \frac{x}{V} \leq 10 \dots \textcircled{3}$$

この時、x は試料を精密分析系に供した際の捕集液中の SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>量(μg)を、V は捕集液量(ml)をそれぞれ表す。

硫黄および SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の分子量はそれぞれ 32 および 96 であること、精密分析系での捕集液体積(V)が 30ml であることを考慮すると、式③は以下のように変換できる。

$$0.1 \leq \frac{3y}{30} \leq 10 \dots \textcircled{4}$$

$$1 \leq y \leq 100 \dots \textcircled{5}$$

この時、y は試料を精密分析系に供した際の捕集液中の硫黄量(μg)を表す。

捕集液中の硫黄量は試料に含まれる硫黄量に等しいことから、精密分析系に供する式⑤は以下のように変換できる。

$$\frac{1}{S} \leq W \leq \frac{100}{S} \dots \textcircled{6}$$

ラフ分析系の結果では相対誤差が最大で 40.0% だったことを考慮すると、ラフ分析系による試料のおおよその硫黄濃度から精密分析系に供する試料量を見積もる場合、試料量は式⑦に示す範囲となる。

$$\frac{1.4}{S'} \leq W \leq \frac{140}{S'} \dots \textcircled{7}$$

以上の結果から、ラフ分析系で得られたおおよその硫黄量から精密分析系に供する試料量を算出できることが示唆された。

### 3-3. 実サンプル測定

本研究の精密分析系およびラフ分析系を組み合わせた微量硫黄分析システムを用いて、実際の梱包に使用される段ボールや包装紙に含有される硫黄分の定量を試みた。

まず、段ボールおよび包装紙に含まれるおおよその硫黄濃度を把握するため、段ボールおよび包装紙 5mg をラフ分析系に供した。その結果、ガスバックに捕集された出口ガスの SO<sub>2</sub> 濃度はそれぞれ 7.37 および 0.39μl/l であり、式②より試料中のおおよその硫黄濃度はそれぞれ 4211 および

表3 精密分析系に供した段ボールおよび包装紙の試料量、試料由来  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度および硫黄濃度

試料	試料量 (mg)	試料由来 $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	硫黄濃度 (wt. ppm)
段ボール	5	1.6	3170
包装紙	10	0.18	175

221wt. ppm となる。このことから、式⑦より精密分析系に供する試料量の範囲は段ボールで 0.3~33mg、包装紙で 6.3~633mg となる。

次に、段ボールの試料量を 5mg、包装紙の試料量を 10mg として精密分析系に供したところ、捕集液中の試料由来  $\text{SO}_4^{2-}$ 濃度はそれぞれ 1.6 および 0.18 $\mu\text{g}/\text{g}$  だった。このことから、式②を用いて試料中の硫黄濃度を算出したところ、それぞれ 3170 および 175wt. ppm であり、段ボールの方が金属製品の硫化腐食が発生する可能性が高いと考えられた。このように、現状の有機元素分析では困難な ppm オーダーの硫黄分を、微量硫黄分析システムを用いて定量できることが示唆された。

#### 4. まとめ

- ①精密分析系により、有機材料中の ppm オーダーの硫黄分を定量できた。
- ②ラフ分析系で得られたおおよその硫黄量から精密分析系に供する試料量を算出できた。
- ③本研究で構築した微量硫黄分析システムによって、段ボールや包装紙といったパルプ製品に含まれる硫黄分を定量できることが示唆された。

#### 文献

- 1) 渡辺博, 藤堂洋子, 電気化学および工業物理化学, **59**, 292-301(1991)
- 2) 谷川昇, 浦野紘平, 廃棄物学会論文誌, **8**, 261-269(1997)

# プラントベースミートの調査研究

川上亮英・山田徹郎・関口昭博

Investigation research on plant-based meat  
KAWAKAMI Ryoei, YAMADA Tetsuro and SEKIGUCHI Akihiro

プラントベースミート由来のハンバーグと、市販品のハンバーグのテクスチャー及び味覚を比較するため、官能評価、クリープメータ及び味覚センサーを用いて調査した。テクスチャー試験において、硬さやもろさの評価では差が小さかった。一方、味覚センサーの呈味評価では、苦味、渋味、塩味において特徴的な差が見られた。

キーワード：プラントベースミート、官能評価、テクスチャー試験、味覚センサー

We investigated differences between plant-based meat hamburger and commercially available hamburger in sensory evaluations, creepmeter and taste sensing system to compare food textures and tastes of them. In the texture test, the difference was not showed by the evaluation of hardness and fragility. On the other hand, obtained taste data by taste sensing system was evaluated in bitterness, astringency and saltiness.

Keywords : plant-based meat, sensory evaluations, texture test, taste sensing system

## 1 まえがき

プラントベースミートとは、牛肉や卵などの動物性たんぱく質等の原材料を使用せず、大豆やエンドウ豆などの植物由来のたんぱく質等のみで加工した代替肉の一種であり、日本では「大豆ミート」や「ベジミート」、「フェイクミート」など名称は様々である<sup>1)</sup>。近年、プラントベースミートは世界中で爆発的な流行をみせており<sup>2)</sup>、ビヨンド・ミートやインポッシブル・フーズ等のベンチャー企業がこの流行を牽引し人気を博している。プラントベースミートが注目されている背景として、菜食主義や宗教上の思想だけでなく、健康志向や動物愛護、たんぱく質クライシスや気候変動の緩和策など多様な理由があり、その開発に期待が寄せられている<sup>3)</sup>。

プラントベースミートを使用した食品は様々で、ブロック型・フィレ型・ミンチ型に成形した代替肉や、ハンバーグやソーセ

ージ、ハム、肉団子、メンチカツなどと多岐にわたっている。

食品に対する主観的な人間の味覚のよりどころは「食感要素」と呼ばれており<sup>4)</sup>、食感要素の中には色・外観・味・香り及びテクスチャーが含まれている。プラントベースミートの食感要素は、食味すると肉のようでおいしいと評価、報告されている一方、本物の肉との違和感を感じることも多い<sup>1)</sup>。実際、プラントベースミートとして多く使用されている大豆タンパクは、異風味やテクスチャーの違和感、大豆特有の青臭さや油の酸化臭があるため、味付けやマスキングでは隠しきれず、肉本来のおいしさへの課題を残している<sup>5)</sup>。

プラントベースミートのたんぱく質や食物繊維などの栄養成分<sup>6)</sup>や、その原料の遊離アミノ酸や脂肪酸組成等<sup>5)</sup>は詳細に分析され、本物の肉と比較されているが、それらの味覚やテクスチャーの科学的な違いは報告例が少ない<sup>7)</sup>。

そこで本調査研究では、官能評価、クリープメータ及び味覚センサーによって、得られた味とテクスチャーのデータを解析し、プラントベースミートと肉の食感要素の科学的な違いについて比較検討した。

## 2 研究方法

### 2.1 試料

プラントベースミートの中でも国内流通量が多く、味、香りおよびテクスチャーがおいしさを決定する重要な要素であるとされているハンバーグ<sup>8)</sup>を試料として選定した。用いた試料は市販されている国内産動物性冷凍ハンバーグ3種(A(牛豚)、B(牛豚)、C(鶏))と、国内産プラントベースハンバーグ(以下PBBと略す)5種(D・E・G・H・I)、海外産PBB 2種(F・J)の計10種類とした。また、BEYOND MEAT社製「BEYOND BEEF」と「BEYOND BURGER」の2種を味覚センサー測定でのみ用いた。

### 2.2 官能評価

パネルはセンター職員9名で構成し、評価は1試料ずつ比対照採点法<sup>8)</sup>で行った。テクスチャーの評価用語は、「かたさ」「歯切れ」「もろさ」の3種類を設定した。味覚の評価用語は、旨味として「おいしさ」、塩味として「しょっぱさ」、植物性由来の苦味・渋味成分を考慮し「苦さ・渋さ」の3種類とした。また、PBBが本物のハンバーグと同様かの全体的な評価として「ハンバーグらしさ」を設定した。

標準試料として「A(牛豚)」を選んだ。標準試料とテスト試料は、1個ずつ1枚の皿にのせラップをし、電子レンジ(500W、3分)で加熱後、熱電対温度計で40℃まで放冷し、一口サイズに切り分け試食した。

いずれの評価項目も7段階で評価し、各カテゴリーをそれぞれ数値化した。各パネルは試食しながら図1に示した数値尺度上の評価項目に応じた位置に丸印を記入した。

### 2.3 テクスチャー試験

クリープメータ(山電(株)製RE2-33005 C)を用いて、測定荷重、ガム性荷重及びもろさ荷重を求めた。試料は前述同様に加熱放冷後、受け皿に固定した。クリアランスは試料の歪率が80%となる位置に設定し、



図1 官能評価の評価項目と数値尺度

円柱形(φ11.3 mm)プランジャー、ロードセル20N、測定速度1.0 mm/secで測定した。

### 2.4 味覚測定

味覚センサー((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)を用いて味覚を測定した。

前処理として、試料を前述同様に加熱放冷後、試料50 gと40℃に保温した超純水200 gをミキサーに秤量し1分間攪拌した。得られた懸濁液を遠心分離(3500rpm、10分)し、上澄みを不織布でろ過したろ液を試験溶液とした。ただし旨味測定においては、試験溶液をメーカー指定の方法で40倍希釈した希釈液を使用した。

また、玉ねぎ添加試験として、ローストオニオンパウダー(エスビー食品)を試料B(牛豚)に対し、重量%として、1、2.5、5、10、25%添加した検体を、同様の前処理方法で処理後、A(牛豚)を基準点0として味覚センサーで測定した。

## 3 結果と考察

### 3.1 官能評価

まずパネル評価の一致性を検討した。9名の判定結果を順位に置き換えKendall<sup>8)</sup>の一致係数を求めたところ、しょっぱさは有意水準5%以下、他6項目は有意水準1%以下で判定結果の一致性が確かめられた。そこで判定結果を数値化した平均値を評点とした(表1)。PBBは標準試料A(牛豚)に比べ、おいしくない、渋い苦い、ハンバーグ

表 1 官能評価結果

	かたい/ やわらかい	歯切れが 悪い/よい	もろい/ よくかめない	おいしい/ おいしくない	しょっぱい /塩味うすい	渋い・苦い/ 渋・苦くない	ハンバーグに 近い/遠い
A(牛豚)	0	0	0	0	0	0	0
B(牛豚)	-0.9	-0.1	0.3	-0.3	-0.3	-0.2	0.2
C(鶏)	-2.3	-1.1	1.2	-1.1	-0.3	0.3	-0.6
D	1.1	0.4	-0.3	-2.0	-1.1	1.1	-1.9
E	2.4	1.6	-2.2	-2.2	-0.3	1.8	-2.6
F(海外)	0.2	0.0	-0.4	-1.0	1.2	0.3	-1.2
G	-0.8	0.2	0.7	-0.8	-0.3	-0.1	0.0
H	-1.7	-1.3	1.6	-1.9	1.1	0.8	-2.1
I	-1.7	-0.2	0.1	-1.9	0.9	0.9	-1.8
J(海外)	0.0	0.9	0.3	-2.6	0.6	1.8	-2.7

から遠いと評価される傾向があった。

また、「ハンバーグの近さ」に対して、各評価項目の相関係数を求めると、かたさなどのテクスチャー3項目は0.4程度の相関がある一方、おいしさ、渋さ・苦さは0.9以上と高い相関が見られた。このことから、本物のハンバーグに近いかどうかは、テクスチャーより味の要因が大きいと考えられた。

### 3. 2 テクスチャー試験

テクスチャー波形の結果を図2に示した。試料Eを除いたPBBは、A(牛豚)、B(牛豚)、C(鶏)と似た波形を示し、テクスチャーにおいてPBBは動物性ハンバーグと差が小さい傾向が見られた。また、得られたかたさ荷重、ガム性荷重及びもろさ荷重の値と官能評価との相関係数を求めると、いずれにおいても中程度から強い正と負の相関が見られた(表2)。よって、PBBはハンバーグと似たテクスチャーであるものの、テクスチャー試験により、硬さ、歯切れのよさ、もろさの差を評価できることがわかった。

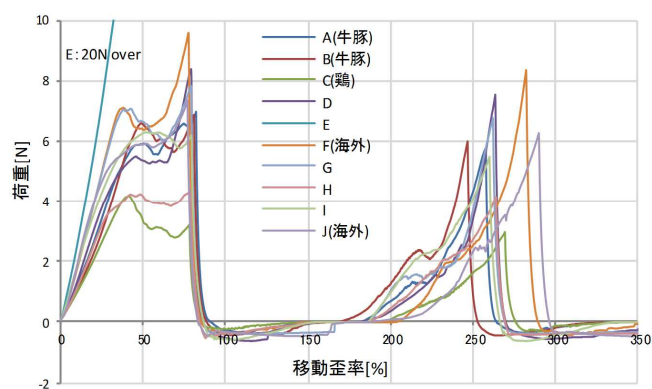


図 2 移動歪率－荷重曲線

表 2 官能評価とテクスチャー試験の相関

	かたさ	歯切れ	もろさ
かたさ荷重	0.904	0.870	-0.905
ガム性荷重	0.834	0.776	-0.907
もろさ荷重	-0.688	-0.600	0.538

### 3. 3 味覚測定

#### 3. 3. 1 味覚比較

先味である「塩味」「酸味」「苦味雑味」「渋味刺激」「旨味」、後味である「苦味」「渋味」「旨味コク」の合計8項目を味覚センサーで測定し比較した。なお、味強度が無味より低い「酸味」は除外した。

得られた味覚データから主成分分析を行った。第1、第2主成分の累積寄与率は78.9%であり、第1主成分は苦味雑味、渋味刺激、塩味、苦味、渋味が、第2主成分は旨味、旨味コク、甘味が寄与していた。第1、第2主成分でグループ分けした主成分分析結果を図3に示す。動物性ハンバーグA～Cと、日本製のPBB、そして海外製のPBB各種がそれぞれグループ分けできるほど差が大きいことがわかった。

そこで味覚のうち、どの味覚で差があるのかA(牛豚)を基準点として二次元分布図で解析した。なお、味覚センサーによる測定結果の1目盛りは、基準値から約20%濃度差を示し、大多数の人が有意差を感じる(Weber-Fechnerの法則)と考えられている<sup>9)</sup>。さらに味覚が優れている人は0.5目盛り程度でも差を感じることができると経験上いわれている。

苦味雑味と渋味刺激の二次元分布図を図4に示す。A(牛豚)及びB(牛豚)と、試料Iを

除いた全てのPBBでグループ分けされ、苦味雑味と渋味刺激の目盛り差はそれぞれ0.5以上でPBBが強い結果となった。また、図に示さないが、後味である苦味と渋味も同様の傾向を示した。PBBには大豆等の植物性たんぱく質の比率が多いため、それら植物性原料由来のサポニンやイソフラボン等<sup>10)</sup>の苦味渋味成分が残留している可能性が考えられる。

塩味と旨味コクの二次元分布図を図5に示す。旨味コクにおいて、PBBは動物性ハンバーグより同程度かそれ以上強い傾向を示し、塩味においては、動物性ハンバーグと比較するとPBBのいずれも1目盛り以上強いことが分かった。これは植物由来の味をマスキングするためや、PBBを肉の味に近づけるために、調味料や香辛料が多く使用されているためと推察される。

味覚センサーの結果に対応する官能評価との相関係数を表3に示す。渋味刺激を除くいずれの味覚項目において、0.4以上と中程度の相関が見られる。したがって、味覚センサーで動物性ハンバーグとPBBの

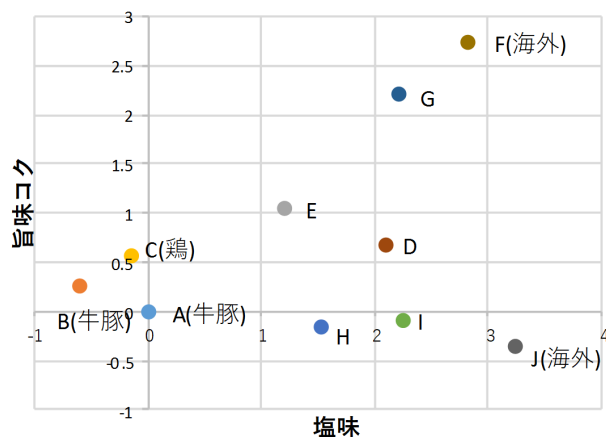


図5 塩味・旨味コク

表3 味覚センサーと官能評価の相関

味覚センサー	相関係数	官能評価
旨味	0.452	+おいしい
旨味コク	0.481	
塩味	0.425	+しょっぱい
苦味雑味	0.480	+渋い・苦い
渋味刺激	0.336	
苦味	0.704	
渋味	0.687	

味の比較、評価がある程度可能であると考えられる。

### 3.3.2 たまねぎによる味覚の影響

味覚センサーの結果から、甘味と旨味の二次元分布図(図6)を見ると、甘味の増加に比例して旨味が強くなる傾向が見られ、海外製PBBと基準点A(牛豚)を除いた試料BCDEGHI7点を結ぶ直線の傾きは0.559、R<sup>2</sup>値が0.730であった。よって、全ハンバーグに共通に使用されている原材料によって、甘味と旨味が増加する可能性があると考えた。

そこで各試料の原材料に着目すると、玉ねぎが全試料で使用されていたため、玉ねぎがハンバーグに対しどの味覚に影響を与えるか、また、添加量に比例して甘味と旨味が増大するか、玉ねぎ添加試験をもって検討した。

甘味と旨味の二次元分布図(図7)において、玉ねぎの添加量に比例して甘味と旨味が増加する傾向が見られ、直線の傾きは0.632、R<sup>2</sup>値は0.767であった。また、図には示さないが、後味の旨味コクも添加量に対し増加した。よって、玉ねぎはハンバーグの旨味と甘味の要因のひとつであると

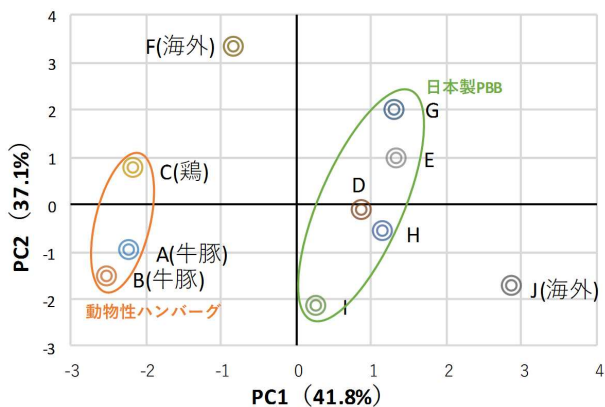


図3 主成分分析

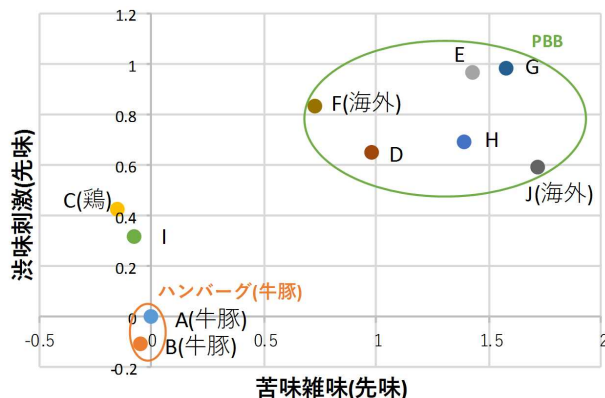


図4 苦味雑味・渋味刺激

考えられる。

一方、苦味雑味と渋味刺激の二次元分布図(図8)においては、玉ねぎの添加量に対し、 $R^2$ 値1.000と高い相関をもって比例した。さらに無添加から2.5%添加するだけで目盛り差が0.5変化することからも影響が大きいことがわかった。また、図には示

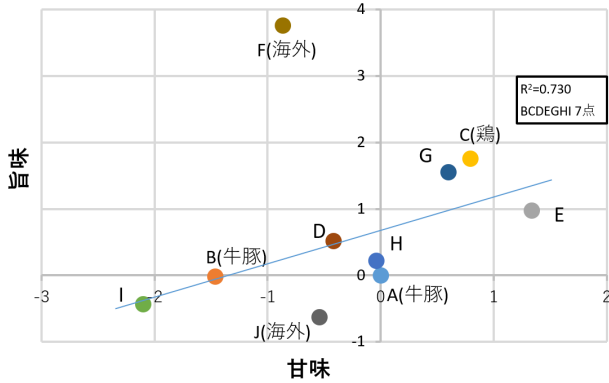


図6 甘味・旨味

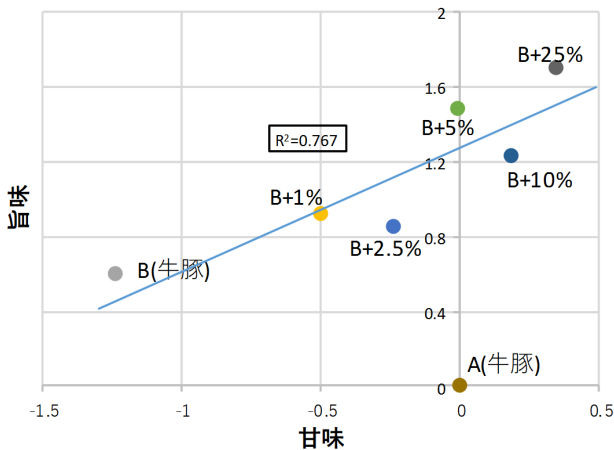


図7 玉ねぎ添加(甘味・旨味)

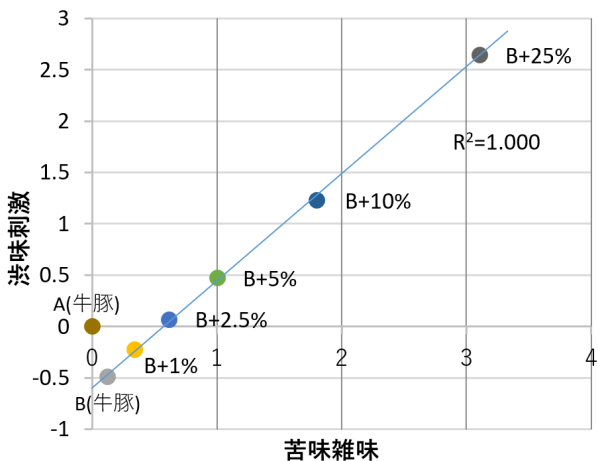


図8 玉ねぎ添加(苦味雑味・渋味刺激)

さないが、後味の苦味と渋味においても $R^2$ 値1.000で比例した。このことから、玉ねぎのケルセチン等の植物由来の苦味渋味成分が、ハンバーグの苦味や渋味に大きく寄与すると考えられる。植物性原料のみのPBBにおいても、苦味渋味類が動物性ハンバーグより強いことから、植物性原料由来の苦味渋味成分が味覚に大きく影響していると推察される。

### 3.3.3 BEYOND MEAT製品との比較

BEYOND MEAT社はプラントベースミートブームの火付け役であるベンチャー企業であり、主力商品である「BEYOND BEEF」と「BEYOND BURGER」は「本物の肉に近いプラントベースミート」とされ人気がある。そこで、この2つを味覚センサーで測定し、前述のデータと比較した。

主成分分析の結果を図9に示す。味覚において「BEYOND BEEF」と「BEYOND BURGER」は日本製のPBBよりも、動物性ハンバーグの主成分に近いことがわかる。

PBBに特徴的な味覚項目が苦味雑味、渋味刺激及び塩味であったため、それらの項目で比較した二次元分布図を図10と図11に示す。苦味雑味・渋味刺激の図10において、BEYOND MEAT類の苦味雑味が他に比べ1目盛り以上大きな値を示す一方で、渋味刺激は他のPBBよりも低い値を示した。また図11において、塩味は他のPBBよりも0.5目盛り以上低く、動物性ハンバーグに近い値であった。旨味においては動物性ハンバーグA(牛豚)とB(牛豚)より

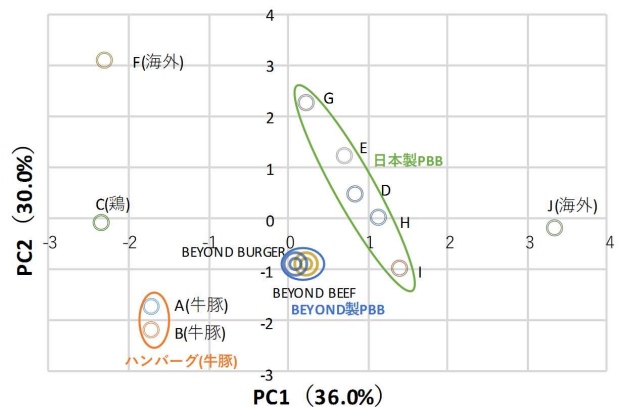


図9 BEYOND MEATを含めた主成分分析



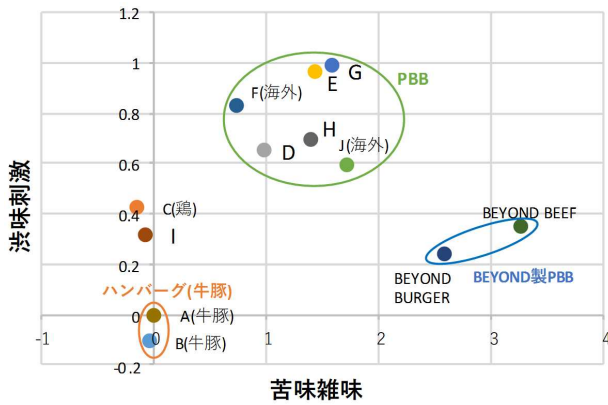


図10 BEYOND MEAT(渋味刺激・苦味雑味)

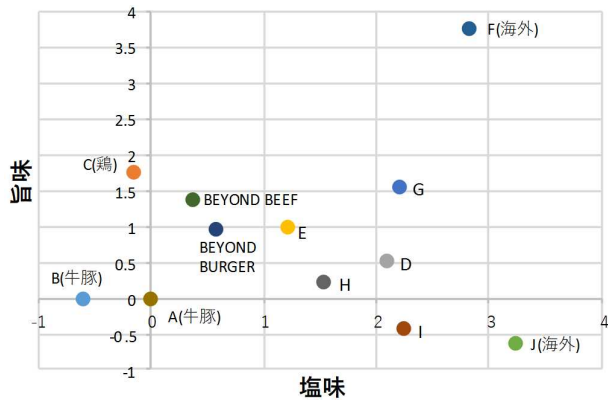


図11 BEYOND MEAT(塩味・旨味)

も1目盛り以上大きな値であった。

したがって、味覚において、BEYOND MEAT商品は日本製PBBよりも動物性ハンバーグに比較的近いと考えられる。

#### 4 まとめ

官能評価、クリープメータ及び味覚センサーで、プラントベースミートを使用したPBBと動物性肉を使用したハンバーグを比較し、プラントベースミートと肉の食感要素の科学的な違いについて比較検討した。

官能評価から、PBBは本物のハンバーグから遠いと評価され、テクスチャーよりも、おいしさや苦味・渋味の味覚の影響が大きいと推察された。

テクスチャー試験結果から、PBBと動物性ハンバーグのテクスチャーの差は小さいが、試料同士の硬さ、歯切れのよさ、も

ろさの差を評価することが可能であった。

味覚センサーの結果から、PBBは動物性ハンバーグより塩味、苦味及び渋味が強いことが明らかとなった。植物由来の苦味渋味成分が残留し、それをマスキングするため、調味料や香辛料が多く使用されている可能性が考えられる。一方、味覚において、BEYOND MEAT社のPBBは日本製のPBBよりも動物性ハンバーグに近いこともわかった。

全試料に含まれていた玉ねぎが、ハンバーグに対し味覚にどう影響するか調べたところ、玉ねぎの添加量に対し、甘味と旨味そして苦味と渋味が比例して増加することが明らかになった。

以上のことから、プラントベースミートを本物の肉に近づけるためには、主成分の植物性たんぱく質由来の苦味渋味を排除し、調味料等の添加量を抑える必要があると考えられる。

#### 文献

- 1) 井上正子：食品と科学, **63**, 2(2021)
- 2) 株式会社矢野経済研究所：代替肉(植物由来肉・培養肉)世界市場に関する調査を実施(2020年) No.2430
- 3) 三井住友フィナンシャルグループ：SAFE, **129**, October (2019)
- 4) 松本幸雄：化学, **31**, 332(1976)
- 5) 落合孝次：「発芽大豆を利用した次世代ベジダブルミートの開発」食品と開発, **55**, 7(2020)
- 6) Jiang He *et al.* : Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, **19**, 5(2020)
- 7) 株式会社味香り戦略研究所：「感性データから植物性代替食品の「今」をみる!動物性との違いで見える価値とは」
- 8) 矢野信光：食の科学, **42**, 84(1978)
- 9) Kobayashi, Y. *et al.* : Sensors 2010, **10**, 3411-3443.
- 10) 工藤重光 他：日本醸造協会誌, **87**, 1(1992)

# その他研究

## 群馬G2酵母の泡無し株の取り直しと高品質清酒の製造

渡部貴志・柳澤昌臣・櫻井 武\*・吉野 功\*\*

Breeding of non-foaming Gunma G2 yeasts to produce high-quality sake  
WATANABE Takashi, YANAGISAWA Masaomi,  
SAKURAI Takeshi and YOSHINO Isao

群馬県独自酵母である群馬G2酵母(G2)は、メロンやバナナ様の吟醸香である酢酸イソアミルを生産する吟醸用酵母である。しかしながら、G2はもろみ発酵中の炭酸ガスの泡に吸着し、高泡を形成する性質をもつ泡有り酵母であり、酒造りの際に泡消しの作業が必要であった。また、従来取得していたG2の泡無し株(G16)はセメダイン様の酢酸エチル生産量が高くなっており、県内酒造会社からG2の泡無し株の取り直しの要望が出ていた。そこで本研究では、平成6年に保存していたG2から優れた醸造特性を維持した泡無し株を取得し、実用化を行ったので報告する。

キーワード：清酒、群馬清酒酵母、酢酸イソアミル、泡無し株

Gunma original sake yeast G2 produces a *ginjo*-aroma isoamyl acetate, like melon and banana aroma. However, G2 attaches CO<sub>2</sub> gas and produces layer foam that covers the surface of *moromi*. Thus, when G2 is used, the brewery workers need to clean foam off their tank walls. Additionally, previous non-foaming G2 strain (G16) produces higher ethyl-acetate than parent strain does. Therefore, re-isolation of non-foaming G2 strain was required from sake factory of Gunma prefecture. In this study, we attempt to obtain alternative non-foaming G2 stain from Heisei 6 year stocks.

Keywords: Japanese sake, Gunma sake yeast, Isoamyl acetate, non-foaming strain

### 1 はじめに

日本食文化の世界遺産化に伴い清酒に注目が集まり、特に独自性の高い高品質な清酒が人気となっている。欧米諸国では、ワインでいうテロワールの観点から、地元の原料を用いたいわゆる地酒を好む傾向があるため、群馬県独自の優良な清酒酵母を保有することは重要である。群馬G2酵母(G2)は、県内酒造蔵のもろみから分離された群馬県独自の酵母であり、メロンやバナナ様の酢酸イソアミルを高生産し、さわやかな酒質になることが特徴の県と県内酒造会社の共通財産である。

バイオ・微生物係

\* 浅間酒造株式会社

\*\* 環境エネルギー係

しかしながら当該酵母は、もろみ発酵中の炭酸ガスの泡に吸着し、高泡を形成する性質をもつ泡有り酵母である。この性質は、清酒酵母特有のものであるが、もろみの噴きこぼれを防止するために泡消しの操作が必要であり、蔵の衛生管理の観点からも酒造会社を悩ます現象であった。この泡に吸着する性質を無くした「泡無し酵母」が開発され、現在の酒造りの主流になっている。群馬産業技術センター(当センター)においてG2についても、約3年の年月を投じて泡無し化の取り組みがなされたが<sup>1)</sup>、セメダイン様の酢酸エチル高生産の株となっていた。このため、群馬県内の酒造会社から元の優れた醸造特性を維持しないと判断され、G2の泡無し株の取り直しの要望が出ていた。

一方、当センターが県内酒造会社に提供していた県独自酵母は、スラントの植継ぎで保管されていたため、染色体のヘテロ接合性の消失であるLoss of heterozygosity (LOH)<sup>2)</sup>等の影響で少しずつ性質が変化していた。このため、当センターで-80℃のグリセロールストック保存されていた株を整理し、平成30年度から提供株を最も古いストックのものに置き換えることになった。G2についても、平成6年に保存していた株に置き換えたところ、酢酸エチルの生成量が低下することを確認した。

そこで本研究では、平成6年に当センターで冷凍保存していたG2を泡無し化することにより、醸造特性は維持された酵母を選抜し、当センターのパイロットプラントの試験醸造により、得られた製成酒について、各成分解析、官能評価を行った。さらに、浅間酒造株式会社で実地醸造試験を行い、令和2年度に群馬県内酒造会社の共通財産として実用化されたので報告する。

## 2 実験材料と方法

### 2.1 供試酵母

平成6年に当センターで冷凍保存していたG2を親株として用いた。また、前報<sup>1)</sup>と同様にFroth Floatation法<sup>3)</sup>により、上記のG2から取得した泡無し候補株46株を選抜候補として用いた。また、従来頒布していたG2の泡無し株(G16)を対照株として用いた。

### 2.2 α化米での小仕込み試験

G2と泡無し候補株46株の合計47株について、α化米と乾燥麴を用いて表1に示す条件で総米200 gの小仕込み試験を行った(親株+候補株23株ずつ2回の試験)。

麴エキス(Brix 5°) 2.5 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。この培養液1 mLに滅菌酒母用汲み水11mLを加えたものを酒母の代わりとして用いた。また、汲み水は水道水を用い、4、7、10日目に10 mLずつ追水を行った。仕込み温度15℃、19日後に上槽を遠心分離(7000×g, 15 min)で行った。なお、発酵経過途中の瓶の泡立ちの様子を目視し、泡無し株かどうかの最終判定も行った。

表1 α化米仕込み配合

	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
汲み水(mL)	12	68	252	30	362

### 2.3 分析方法

酸度、アミノ酸度、日本酒度、エタノールは国税庁所定分析法に従い、分析を行った。グルコース、マルトースは、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、イソブチルアルコール)は、ヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した。

### 2.4 酒造好適米での小仕込み試験

2.2のα化米を用いた小仕込み試験で選抜した泡無し候補株7株と親株G2、対照株G16に対し、酒造好適米を用いた小仕込み試験により、さらなる選抜を行うことにした。なお、仕込み配合は、α化米での試験と同じ総米200 gである(表2)。

麴エキス(Brix 5°) 2.5 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。この培養液1 mLに滅菌酒母用汲み水11 mLを加えたものを酒母の代わりとして用いた。麴米は平成27年度兵庫県産山田錦精米を用い、40%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。掛米は平成30年度群馬県産舞風精米50%を用い、洗米後に35%吸水率となるように浸水し、蒸籠で蒸したものをを用いた。汲み水は水道水を用い、4日目に10 mL、7日目と11日目に15 mLずつの追水を行った。また、大型恒温水槽を用いることで、仕込み温度を経日的に8~12℃で変化させた吟醸造りを行った。

表2 酒造好適米仕込み配合

	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
汲み水(mL)	12	58	200	40	300
温度(℃)	-	12	8~12	-	-

表3 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	四段	追水	計
総米 (kg)	3.0	10.0	19.0	28.0	3.0		63.0
掛米 (kg)	2.0	7.0	15.0	24.0			48.0
麴米 (kg)	1.0	3.0	4.00	4.0	3.0		15.0
汲水 (L)	4.0	11.0	24.00	42.0	4.5	9.00	85.5
温度 (°C)	18	12	8	6~12			

## 2. 5 パイロットプラント試験醸造

2-4で選抜したG2-8、G-11および親株G2、対照株G16に対し、平成30年度群馬県産舞風（50%精米）を用い、表3に示す配合で総米63 kgの試験醸造を行った。

麴エキス（Brix 5°）15 mLに酵母を白金耳接種し、23°C、4日間静置培養により酵母の拡大培養を行った。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を用いた。掛米の吸水率は酒母が35%、添仲留が33%になるよう調整した。なお、酒母の汲水は水道水を加工し（リン酸二水素カリウム0.8 g/L、硫酸マグネシウム・七水和物0.2 g/L）、乳酸30 mLを加えて5日間の中温速醸を行った。また、もろみの汲水は水道水を用いた。

## 2. 6 官能検査

2.5で試験醸造を行った製成酒について、当センターで開催した令和元年度清酒製造技術講習会に利き酒コーナーを設け、群馬県内外の酒造技術者に官能検査を行うことにした。

製成酒の品温は20°Cに保ち、利き猪口を用いて5点法の総合評価と短評を評価して頂いた。暗番で検査した後、講習会の場で本研究の取り組みと株の紹介を行った。

## 2. 7 実地醸造試験

2.5のパイロットプラントでの試験醸造で用いた候補株（G2-8、G-11）を用い、令和元年度新潟県産五百万石を用いた総米400 kgの実地醸造試験を行った。

浅間酒造株式会社では、自社で拡大培養ができる設備を整えているため、当センターで酵母のスラント培養を行い、冷蔵の宅配便で浅間酒造株式会社に輸送した。拡大培養は、浅間酒造株式会社にて通常の市販酒を造る方法と同様に行った。酒母は速醸もと造りとし、もろみは三段仕込みの通常の市販酒を造る方法で行った。

## 3 結果と考察

### 3. 1 泡無し株の確認と一次選抜結果

本研究を開始する前の準備として、平成6年に当センターで冷凍保存していたG2を用い、培養条件を検討した後、Froth Floatation法で8回の継代培養により、泡無し候補株を46株取得した。この時の泡無し判定は、水-ベンゼンの混濁による簡易的手法<sup>4)</sup>を用いているため（図1A）、酵母の培養条件によっては誤判定となる可能性が残る。このため、泡無し株の確認と醸造特性を粗く確認するためにα化米を用いた小仕込み試験を行うことにした。

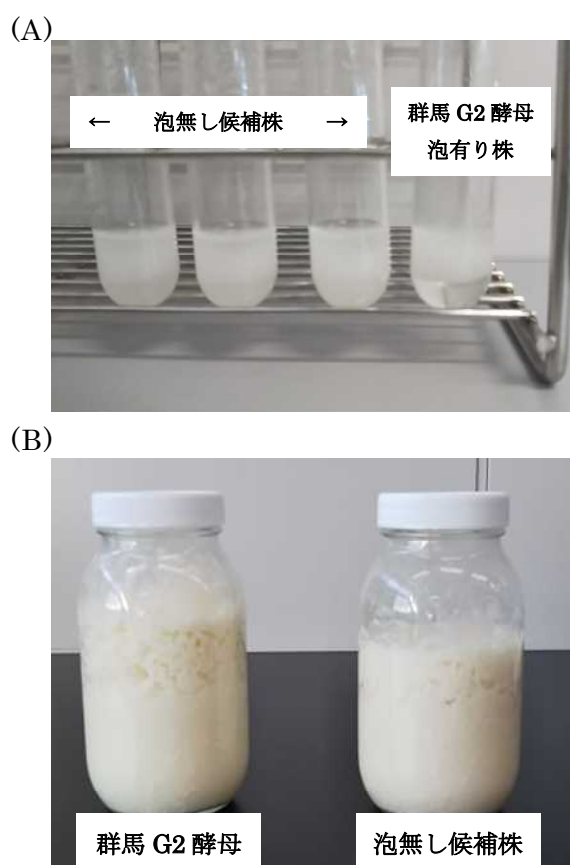


図1 泡無し候補株の選抜の様子

(A) 水-ベンゼン混濁法による簡易判別、  
(B) 小仕込み試験による高泡の形成

表 4 酒造好適米を用いた小仕込み試験各分析値のまとめ

平均値	重量減少量	EtOH	日本酒度	酸度	アミノ酸度	Glucose	Maltose	イソアミル アルコール	酢酸イソア ミル	カブロン酸 エチル	酢酸エチル	イソブチル アルコール	E/A
G2	57.2	15.5	3.8	2.2	0.9	1.8	0.4	193.3	8.5	2.5	107.7	78.9	4.4
G16	57.5	15.7	3.6	2.2	0.8	1.8	0.5	213.7	8.5	2.3	115.6	90.4	4.0
G2-4	58.3	16.0	6.2	2.3	0.9	1.5	0.3	201.6	9.7	2.5	124.6	82.2	4.8
G2-8	56.6	15.4	5.4	2.2	0.8	1.6	0.3	196.4	9.5	2.5	114.1	78.8	4.9
G2-9	60.0	16.5	8.8	2.2	0.9	1.3	0.3	209.0	10.8	2.7	131.6	85.9	5.2
G2-11	60.9	16.5	10.5	2.2	0.8	1.1	0.2	207.1	10.5	2.8	127.9	83.9	5.1
G2-31	59.4	16.4	10.8	2.3	0.8	1.1	0.2	204.3	9.9	2.7	119.1	79.7	4.9
G2-39	62.2	16.9	11.9	2.3	0.8	1.0	0.2	200.1	10.1	2.8	132.4	79.9	5.1
G2-47	60.0	16.7	12.8	2.3	0.9	0.8	0.1	212.2	10.1	2.9	124.5	81.8	4.8
単位	(g)	(% (v/v))	(-)	(mL)	(mL)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(-)

総米200gの酒造好適米で2回の独立した試験の平均値を示す。

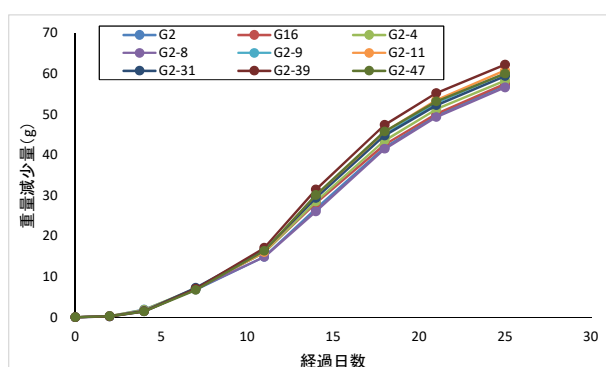


図 2 山田錦小仕込み試験での炭酸ガス重量減少量の経日変化

供試した46株の候補株は、いずれも泡無し株であることが確認できた（図1B）。一方で、株間の香气成分の変動が大きく、泡無し化過程の継代培養で醸造特性が変わりやすいことも確認された（データ略）。この試験結果により、親株G2と同じような醸造特性を示す7株を選抜した。

### 3. 2 酒造好適米を用いた小仕込み試験による二次選抜

先の選抜試験では、主に泡無しであるかを確認することが主眼であり、G2の優れた醸造特性を活かす試験では無かった。そこで、選抜した7株と親株G2、対照株G16を用いて酒造好適米を用いた吟醸造りの小仕込み試験を行い、二次選抜を行うことにした。

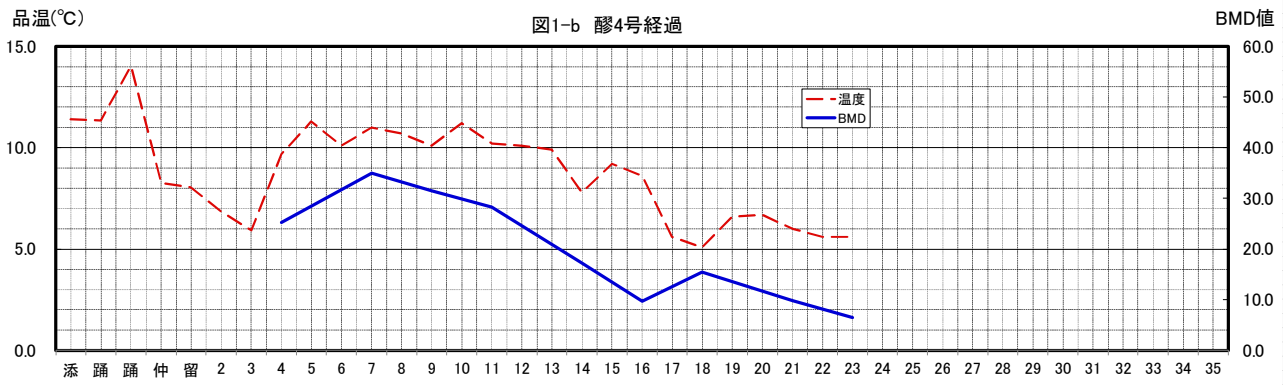
まず、発酵力を示す炭酸ガス放出による重量減少量を経時的に見てみると、G2と変わらないものもあることが分かり、全ての泡無し候補株がG2株より早かったα化米の結果とは異なっていた。一方、最も多

くなっていたのはG2-39であった（図2）。一方、成分分析値をみるとG2に近いものはG2-8とG2-31であったが（表4）、酒造技術者2名とセンター職員3名の官能検査によりG2-8とG2-11をパイロットスケールの試験醸造用を選抜した。なお、比較として用いた従来の泡無し株G16は、酢酸イソアミルとイソアミルアルコールの比（E/A比）が最も低かった。

### 3. 3 パイロットスケールでの試験醸造酒の評価

もろみ経過で2日踊りを取ったため、酵母の増殖はとても良かったが、米が溶けにくく淡麗な酒質となってしまい、結果的には7日目の追水は不要だった（図3）。このため、16日目に麴米を糖化させて4段を行うことにより、酒質を整えた。上槽日が異なるが、1号（G16）、2号（G2-8）、3号（G2-11）、4号（G2）およびそれぞれを均等に混合した清酒を作成し（表5）、酒造技術者に官能検査を行うことにした。

約40名の審査で全ての試験醸造酒について、総合評価は普通の3より低い数字であり、G2の優れた醸造特性を引き出したことが分かった（表6）。一方で、上槽の順序等の影響からか3号の製成酒が酢酸イソアミルと酢酸エチルが低めとなっており、その影響からか総合評価が一番悪い成績であった。総合評価点では、従来の泡無し株G16による試験醸造酒が最も好成績であったが、酢酸イソアミルが低いことや酢酸エチルが高めであることから、G2の醸造特性を維持していないと判断した。



日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35		
温度	11.4	11.4	14.0	8.3	8.0	6.9	5.9	9.7	11.3	10.1	11.0	10.7	10.1	11.2	10.2	10.1	9.9	7.8	9.2	8.6	5.6	5.1	6.6	6.7	6.0	5.6	5.6										
BMD				6.3				5.0		3.5	2.6		1.2		0.6	0.9		0.5		0.5		0.3															
ボーメ																																					
日本酒度																																					
アルコール																																					
酸度																																					
アミノ酸度																																					
BMD																																					
Glucose																																					
イソブチルアルコール																																					
酢酸イソアミル																																					
酢酸エチル																																					
追い水																																					

図3 パイロットスケール試験醸造のG2のもろみ経過

表5 試験醸造酒の各種成分

製成酒	1号 (G16)	2号 (G2-8)	3号 (G2-11)	4号 (G2)	混合
ボーメ (日本酒度) (-)	0.35	0.18	0.3	0.28	0.28
酸度 (mL)	1.6	1.6	1.6	1.8	1.7
アミノ酸度 (mL)	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
エタノール (%)	16.4	16.4	16.2	16.6	16.4
グルコース (%)	2.2	2.1	2.3	2.3	2.2
マルトース (%)	0.7	0.6	0.6	0.6	0.7
イソアミルアルコール (ppm)	237.8	226.2	225.9	237.0	226.5
酢酸イソアミル (ppm)	4.2	6.1	3.9	4.8	5.0
カプロン酸エチル (ppm)	0.7	1.1	0.7	0.9	0.9
酢酸エチル (ppm)	106.9	105.7	69.3	104.5	95.2
イソブチルアルコール (ppm)	85.0	75.7	76.7	78.8	78.0
E/A比 (-)	1.8	2.7	1.7	2.0	2.2

表6 試験醸造酒の官能評価のまとめ

総合評価	短評
1号 (G16) 2.50	酸強い、キレ悪い、キレイ、さっぱり、イソ、清涼、淡く華やか、酸のクセ、甘さキレイ、酸、カプ+独特、甘、酢エチ、酸、紙、脂肪酸、少しざらつく、苦味、カビ?、味うす、やわらか、おだやか、甘、渋、良、スッキリ、甘良、甘味、酸味がよくさわやか、無難、おとなしい、薄い、後味苦味、香り低い、味しっかり、酒
2号 (G2-8) 2.57	酢イソ、やや紙、もう少しふくらみ欲しい、スッキリ、低い香り、渋、味多い、酸、カプ抑えめ、甘、酢エチ、カプ、やわらか、抜け、後口の香りが悪い、凡、苦味、うく、うすい、スッキリ、イソ、甘、渋、熱、酪酸臭、ほこり、乳、甘酸っぱくすっきり、キレイ、おだやか、イソ、やや甘、まるみ、香り低く、酒
3号 (G2-11) 2.79	やや渋、旨み、キレ良し、酸浮く、酸、カプ抑えめ、苦味、渋味、酢エチ、軽やか、凡、渋、かたい、イソ、甘、粉、丸、やや渋残る、甘酸っぱい、うす、巾不足、おだやか、渋味、平凡、香り低い
4号 (G2) 2.57	酸浮うく、エグミ、バランス良い、酸臭、カプ抑えめ、酢エチ、酸、渋、辛、苦、イソキレイ、バランス良い、甘、甘、苦、甘重、ややダレ、甘酸よし、油の臭い少々、バランス良し、なめらか、イソ、酸味良し、酸、味濃い、平凡、香り低い
混合 2.64	ガス感、荒い、ぶなん、もう少し旨み欲しい、臭い、含みあっさり、低アル、呑みやすいが物足りなさも…、味まとまる、丸味、酢エチ、ふくらみ、旨味、やわらか、綺麗なイソ、若さ、カプ、甘、少しダレ、イソ、甘、酸きつい、酢イソ、ぶなん、良し、甘酸っぱくスッキリ、やや荒い、酸、味重、平凡、ややキレイ、渋、香り低い、酒

総合評価は5点法により優良1、良2、普通3、やや劣る4、劣る5で行った。

表7 実地醸造試験酒の成分分析のまとめ

	グルコース	マルトース	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	酢酸エチル	イソブチル アルコール	E/A
G2-8	1.5	0.4	164.9	3.4	0.6	106.0	72.1	2
G2-11	1.2	0.1	182.1	3.9	0.9	109.9	71.0	2.1
	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(-)

### 3. 4 実地醸造試験による試作品作成

当初の予定では、パイロットスケールの試験醸造で候補株を一株に絞り込み、浅間酒造株式会社でG2と候補株の実地試験醸造を行う予定であった。しかしながら、小仕込み試験やパイロットスケールでの試験醸造の結果から、G2-8はG2の醸造特性をよく維持していたのに対し、G2-11は酢酸イソアミルが高めになる株として有用と評価され、この2株を用いて実地醸造試験を行うことにした。

同じ新潟県産五百万石を用いた実地試験醸造ではあるが、精米歩合が異なるために単純な比較はできない。しかしながら、いずれの株についても従来頒布していたG16に比べて酢酸イソアミルが高く、酢酸エチルが低めであると判断された(表7)。センター職員及び他社の酒造技術者による官能評価では、いずれもキレイで淡麗な酒質であると概ね良好な評価であり、G2の特徴である酢酸エチルの指摘も出ていた。さらに若水を用いた純米酒、麴米に山田錦と掛米に改良信交を用いた純米酒の実地試験醸造を重ね、有用性を確認した(データ略)。

県独自酵母では、リンゴ様のカプロン酸エチルを高生産する群馬KAZE酵母の使用頻度が高く、バナナ様の酢酸イソアミルを高生産する群馬G2酵母の使用頻度は高くなかった。この要因は、G2が泡有り株で扱い難かったことが大きく、また従来泡無し株がセメダイン様の酢酸エチルを高生産するように変質していたからと考えられる。酵母開発は実験操作に時間と手間が掛かるだけで無く、実地醸造試験では酒造会社に原料費や人件費等の多大な負担をお願いする必要がある。今回の研究で開発した泡無し株は、群馬県内酒造会社の共通財産として実用化されており、酒造業界全体への支援につながるものと考えられる。

### 4 まとめ

テロワールの観点からも群馬県の地酒の特徴をアピールする、群馬県独自酵母G2の優れた醸造特性を維持しつつ、泡無しとなったG2-8とG2-11を最終選抜した。引き続き浅間酒造株式会社で、酒米の種類を変えて試験醸造を繰り返したところ、どちらの泡無し株も特徴があり、実用化に耐えうると判断された。これらの結果を踏まえ、群馬県酒造組合との協議により、G2-8およびG2-11は、それぞれG201、G202と命名して令和2酒造年度より実用化し、県内酒造会社に広く頒布することになった。

### 謝 辞

本研究の一部は、浅間酒造株式会社との平成31年度群馬産業技術センター公募型共同研究により実施した。島岡酒造株式会社の島岡利宣氏には、G2泡無し候補株の選抜に協力して頂いた。また、群馬県内外の酒造技術者の皆様には、試験醸造製成酒の官能評価を行って頂いた。

### 文 献

- 1) 増渕 隆ら：平成24年度群馬産業技術センター研究報告、38-41
- 2) 赤尾 健：日本醸造協会 107、366-380 (2012)
- 3) 布川弥太郎ら：日本醸造協会誌 67、968-979 (1972)
- 4) 布川弥太郎ら：化学と生物 11、216-224 (1973)



## やよいひめ酵母を用いた地ビール醸造の実用化

渡部貴志・齋藤季之\*・倉田善弘\*・柳澤昌臣・吉野 功\*\*

Breeding of novel craft beer brewed by a Yayoihime strawberry yeast  
WATANABE Takashi, SAITOU Toshiyuki,  
KURATA Yoshihiro, YANAGISAWA Masaomi and YOSHINO Isao

地ビールは、地域の特性を活かしたものが多く、多種多様で根強い人気がある。そこで本研究では、群馬県独自ブランドいちご「やよいひめ」から取得した酵母（やよいひめ酵母）から、ビール醸造に適するもの（PM13）を選抜し、新たな地ビールの開発に取り組んだ。やよいひめ酵母はいずれもマルトースを資化し、キラー活性はなかった。製品化した新地ビール「プリンセスマーチ・ロナ」は、「Japan Great Beer Award 2019」で金賞を受賞した。また、地ビール会社へ拡大培養酵母を安定して供給するため、ジャーフェーマンターを用いた培養条件の検討を行ったので報告する。

キーワード：やよいひめ、地ビール、酵母、拡大培養、ジャーフェーマンター

Craft beers are brewed with local characters, such as climate and food culture, and various quality. Thus, they are extremely consumed by fond of alcohol drink. In the presented study, we selected a yeast strain PM13, which was isolated from Gunma original “Yayoihime” strawberry as a suitable strain to brew beer. All Yayoihime yeast strains used utilized maltose as carbon source and did not have killer activity. We succeeded to produce a novel craft beer “Princess March RONA” which was prized gold medal of “Japan Great Beer Award 2019”. For the stable supply of cultivated yeast to a craft beer factory, we also performed jar-fermentor cultivation.

Keywords: Yayoihime strawberry, craft beer, yeast, cultivation, jar fermentor

### 1 はじめに

ビールは、麦とホップを原料とし、酵母によって醸される嗜好性の飲料である。全国のビール生産量の大半は、大手四社が占めているが、地域の特性を活かした地ビール会社の造り出す地ビールにも、根強い人気がある。月夜野クラフトビール株式会社は、月夜野びどろパークに併設するレストランに工場直送の地ビールを提供できる強みを持ち、観光と直売所を有しているだけでなく、群馬県産の麦芽を用いたビール造りも行っている。

バイオ・微生物係

\* 月夜野クラフトビール株式会社

\*\* 環境・エネルギー係

ビール醸造で用いられる酵母の多くは市販のものであるため、群馬県独自の酵母を用いることが可能となれば、消費者に分かりやすく、商品の独自性を説明できる。一方、群馬産業技術センター（当センター）では、群馬県独自ブランドいちごの「やよいひめ」から清酒酵母の探索を行っており、前橋工科大学の善野教授の研究室から、パン酵母探索の過程で単離されたやよいひめ酵母を分譲されている。これらの酵母は、冷凍耐性や乾燥耐性が無いため、パンの製造には向かないことが分かっている。また、発酵力が弱く、清酒のオフフレーバーの4-ヴィフェニルグアイアコール（4-VG）も産出するため、清酒醸造にも向かないことが分かってきた。

これらのことから、独自性のある酵母を探していた月夜野クラフトビールと、やよいひめ酵母をワインやビールといった清酒よりもアルコール度数が低い酒類への利用を模索していた当センターが協力し、新たな地ビール開発に取り組むことになった。

そこで本研究では、やよいひめ酵母がビール醸造に適しているか調べ、当センターでの小仕込み試験で酵母を選抜し、月夜野クラフトビール株式会社で選抜した株を用いた実地醸造試験を行った。また、実地醸造試験により、大量の酵母を安定して供給する技術開発をすることが、実用化に向けて不可欠であることが明らかとなったため、ジャーファーマンターを用いた培養条件の検討を行ったので報告する。

## 2 実験材料と方法

### 2.1 供試酵母

前橋工科大学から分譲されたやよいひめ酵母8株を用いた。なお、うち7株はビール酵母も属する *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) であり、残りの1株がワイン酵母の一種 *Torulaspora delbrueckii* (*T. delbrueckii*) であると同定済みである。また、(独)酒類総合研究所より分譲して頂いた、清酒酵母きょうかい701号(K701)を対照株として用いた。

### 2.2 酵母のキラ活性の評価

キラ活性評価用の培地には、YM寒天培地(0.3%酵母エキス、0.3%麦芽エキス、0.5%ペプトン、1.0%グルコース、2.0%寒天)を加温加圧滅菌後、5 mL/Lとなるように乳酸を加えて固めたものを用いた。培地にK701を描線接種した後、各供試酵母をK701と交差するように描線接種し、30℃で24時間静置培養を行い、キラ活性によるK701の増殖阻害が起きるかを調べた。

### 2.3 酵母の糖資化性の評価

炭素源を含まない最小寒天培地(0.67% YNB w/o amino acids、2.0% agar)に、グルコースまたは、ガラクトース、マルトースを2.0%となるように添加した。それぞれの培地に酵母を接種し、30℃で48時間静置培養を行い、増殖の有無で資化性を

評価した。

### 2.4 加ホップ麦汁発酵能力試験

麴エキスは、秋田今野株式会社から冷凍濃縮麴エキス(Brix 20°)を購入し、Brix 5°となるように水道水で希釈して121℃、15分間の加温加圧殺菌処理をした。前培養では麴エキス5 mLを加え、酵母を一白金耳接種し、30℃、150 rpmで24時間振盪培養を行った。本培養は、100 mL容三角フラスコに麦汁培地(月夜野クラフトビールより提供された麦汁(Brix 12°)を121℃、5分間の加温加圧殺菌処理をしたもの)50 mLを加え、前培養液を50 µL接種し、15℃で8日間静置培養を行った。培養後のサンプルを全量回収し、遠心上清(7,000 rpm × 5分間)の密度を酒類用振動式密度計(DA-155、京都電子工業(株)製)を用いて分析した。

### 2.5 小仕込み試験

前培養は、試験管に麴エキス25 mLを加え、酵母を一白金耳接種し、30℃で48時間静置培養を行った。ガラス容器(800 mL容)に500 mLの麦汁を加え、培養酵母を遠心分離(3000 rpm × 1分間)で回収し、前述の麦汁培地にて再懸濁を行ったもの(25 mL)を接種した。大型低温水槽で浸漬し(15℃)、24時間毎に炭酸ガス発生による重量減少量を測定した。

### 2.6 分析方法

酒精度(アルコール濃度)、酸度は国税庁所定分析法に従い、分析を行った。pHおよびBrixはそれぞれ、pH計と糖度計を用いて分析した。糖類(グルコース、マルトース)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)は、ヘッドスペースガスクロマトグラフで分析した。

### 2.7 実地醸造に向けた拡大培養

実地醸造に向け、当センターで拡大培養した酵母を冷蔵便で月夜野クラフトビール株式会社へ提供した。1度目の実地醸造試験では、清酒酵母の拡大培養と同様に麴エキス500 mLで拡大培養した酵母を提供した。2度目の実地醸造試験では、研究用のBecton Dickinson社製の酵母エキスではなく、市販の食品添加物用のミーストP1G

(アサヒフードアンドヘルスケア株式会社製)を用いた酵母エキス培地(3%酵母エキス、5%スクロース)を用いた。前培養は酵母エキス培地5 mLを試験管に加え、酵母を一白金耳接種し、30℃、150 rpmで24時間振盪培養を行った。本培養は、500 mL容三角フラスコに酵母エキス培地160 mLを入れ、前培養液を全量加え、30℃、150 rpmで24時間振盪培養を行った。12本分の培養液(約2 L)を遠心分離(5,000 rpm × 5分間)し、得られた菌体を麴エキス500 mLに再懸濁したものを提供した。

拡大培養酵母を安定して供給するため、ジャーファーマンターを用いた培養条件の検討を行った。前培養は酵母エキス培地50 mLを300 mL容三角フラスコに加え、酵母を一白菌耳接種し、30℃、150 rpmで24時間振盪培養を行った。本培養では、拡大培養用培地1.2 Lを3 L容ジャーファーマンターに入れ、前培養液を全量加え、30℃で攪拌羽回転数400 rpm、0.3 LPMの通気を行った。なお、消泡剤は食品添加物の信越シリコーンKM-72(信越化学工業株式会社製)を200倍希釈し、培養開始時に5 mL加えることにより、高泡形成による培養液の流出を防いだ。上記の基本条件の下、拡大培養用培地の組成について検討を行った。

### 3 結果と考察

#### 3.1 酵母のキラ活性

自然界に生息する酵母の中には、キラー毒素という毒を生産することにより、その他の酵母を死滅させる能力(キラ活性)をもつものがある。酒造現場でキラ活性を有する酵母が存在すると、酒造目的で使用する有用酵母を死滅させてしまう恐れがあるため、自然界から取得した酵母を用いる場合、はじめにキラ活性の有無を調べる必要がある。

キラ活性を持たない清酒酵母 K701 の増殖を阻害するか調べたところ、いずれのやよいひめ酵母もキラ活性を有していないことが確認でき(データ略)、実用化へ向けた第一段階の課題をクリアした。

#### 3.2 酵母の糖資化性

ビール酵母やパン酵母、清酒酵母はいずれも *S. cerevisiae* に属しているが(あるいは近縁種)、様々な性質が異なっている。例えばビール醸造では、麦芽の酵素がデンプンをグルコースとマルトースに分解するため、麦汁中にマルトースが多く存在する。従って、ビール酵母のマルトース資化性は重要な性質であるが、清酒酵母にはマルトース資化能が無く、ガラクトース資化性が弱いものが多いという特徴がある。

用いたやよいひめ酵母はいずれも、グルコースだけでなくマルトース、ガラクトースを資化し、寒天培地上で増殖した。一方、対照株として用いた清酒酵母 K701 は、既存の報告通りマルトースを資化せず、増殖は弱かった(データ略)。以上の結果から、ビール醸造に必要な基本的な能力をやよいひめ酵母が持っていることを確認した。

#### 3.3 加ホップ麦汁発酵能

酒類醸造では、開放形で行われているため、雑菌汚染を防ぐために様々な方法がとられている。ビール醸造では、麦芽により糖化した麦汁に雑菌増殖抑制効果があるホップを加えて煮沸することにより、殺菌処理をしたものを用いている。ビール酵母に求められる能力の一つには、この加ホップ麦汁でも効率よく増殖し、発酵できることである。そこで向井らの方法<sup>1)</sup>に従い、短時間の加温加圧滅菌処理した麦汁培地での発酵能を調べた。

いずれのやよいひめ酵母もボーム度を上げていたため(表1)、麦汁をよく発酵し、エタノールを生産していることが分かった。やよいひめ酵母13、31、49、65は、培養初期で良く泡発生していたので選抜した。

表1 発酵によるボーム度の変化

	ボーム度
Blank	6.80
やよいひめ酵母1	1.74
やよいひめ酵母3	1.71
やよいひめ酵母13	1.67
やよいひめ酵母24	1.75
やよいひめ酵母31	1.69
やよいひめ酵母49	1.68
やよいひめ酵母56	1.68
やよいひめ酵母65	1.66



図1 小仕込み試験の様子（2連で実施）

### 3.4 小仕込み試験

ビール醸造では、加ホップ麦汁を滅菌処理せずに発酵しているため、パイロットスケールでの発酵試験を行う前に、小仕込み試験をして各酵母の発酵能と醸造成分を調べる必要がある。そこで、前述の向井らの方法を参考にし、500 mL規模の小仕込み試験を実施した（図1）。

用いた4種のやよいひめ酵母は、いずれも2日目から良く発酵し、5日目までに発酵がほぼ終了した（図2）。得られた製成酒のアルコール濃度は、約5%であり、グルコースとマルトースもほぼ消費されていたことから、成分分析の面からも、やよいひめ酵母が加ホップ麦汁を発酵していることが確認できた（表2）。一方で、それぞれの供試株の挙動は、2連の間で少しずつ異なっており、微生物実験の再現性の難しさが認められた結果であった。

また、セメダイン様の香りでオフフレーバーである酢酸エチルの濃度が低めであり、官能試験でも比較的良好だったやよいひめ酵母13と31が最終選抜株となった。なお、やよいひめ酵母13は、*T. delbrueckii* と同定された株である。

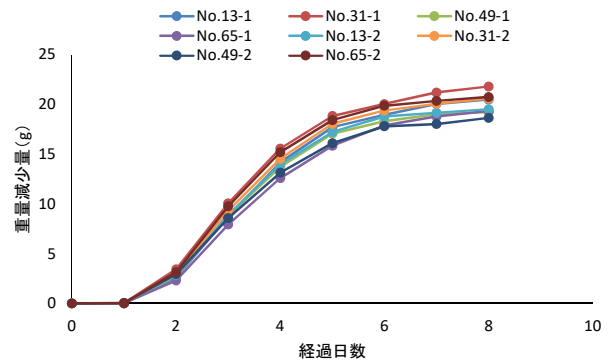


図2 重量減少量の経日変化

### 3.5 実地醸造試験

さらに検討を進め、やよいひめ酵母13を選抜し、月夜野クラフトビール株式会社で1000 L規模の実地醸造試験を行うことになった。用いる麦芽やホップなどの醸造条件は、酒質に関わるものであるので月夜野クラフトビール株式会社に検討を依頼し、当センターでは実用化へ向け、どの程度の酵母量を提供するかを調べることにした。

小仕込み試験の検討では、麦汁500 mLに対し、酵母の添加量を2.5 mLまで減らしても問題なく発酵していたことから、1度目の実地醸造試験では、清酒酵母の拡大培養と同様に麴エキス500 mLで拡大培養した酵母を提供した。しかしながら、酵母を添加して4日間程度は目立った発泡が確認されず、規模を大きくすると同じ割合で酵母添加量を増やしただけでは対流が起きないことが認められた。

はまゆり酵母で地ビール開発をした岩手県工業技術センターに問い合わせをしたところ、麦汁5 L分の酵母培養液を添加していることが分かったので、調製しやすく酒税法で利用しても問題ない食品添加物用の酵母エキスを利用して、酵母の拡大培養を

表2 小仕込み試験酒の各種成分分析のまとめ

	重量減少量 (g)	エタノール (%)	酸度	pH	Brix	グルコース (%)	マルトース (%)	酢酸エチル (ppm)
Blank	-	-	-	4.9	12.6	0.9	6.9	-
No.13-1	20.5	5.1	3.6	4.1	6.1	0.0	0.0	11.6
No.31-1	21.8	5.1	3.4	4.1	6.1	0.0	0.0	11.1
No.49-1	19.2	5.1	3.6	4.1	6.2	0.0	0.0	9.7
No.65-1	19.3	4.7	3.8	4.0	6.6	0.0	0.2	20.9
No.13-2	19.5	4.8	3.7	4.1	6.4	0.0	0.0	17.7
No.31-2	20.6	4.8	3.4	4.0	6.6	0.0	0.0	17.6
No.49-2	18.6	4.6	3.4	4.0	6.4	0.0	0.1	14.4
No.65-2	20.8	5.0	3.8	4.1	6.8	0.0	0.1	15.6



図3 Princess March RONA

行うことにした。また、静置による嫌気培養ではなく、酵母菌体の増殖速度が速く、増殖量も高い好気培養を採用し、得られた菌体を500 mLの麹エキスに濃縮して提供したところ、実地醸造試験でも問題なく発酵することが可能となった。

得られた試験データを参考に月夜野クラフトビール株式会社が制作した新商品「Princess March RONA」（図3）は、日本地ビール協会の「Japan Great Beer Award 2019」で金賞を受賞することができた。なお、前橋工科大学の善野教授とも協議し、やよいひめ酵母13を「PM13」と命名し、群馬県共通の財産として保管することが決まった。

### 3. 6 拡大培養酵母提供の安定化

岩手県のケースでは、（独）製品評価技術基盤機構との共同で「はまゆり酵母」の探索と地ビール製造を行っており、酵母の拡大培養は民間企業に委託されている。しかしながら、群馬県だけでは酵母の外部機関への流出を監視することができないため、拡大培養酵母を当センターで提供することになった。また、拡大培養酵母は新鮮な状態で提供する必要があり、提供する時期も不定期であることから、一定の品質のものをできるだけ効率的かつ迅速に培養する技術開発が必要となった。

ジャーファーマンターは、温度、攪拌数、通気量、pHなどを制御、モニタリングできる卓上型の培養装置である。ジャーファーマンターは、酵素や医薬品などの有用物質生産で用いられる培養装置へスケールアップする前段階に用いられている（図4）。



図4 ジャーファーマンターの外観

フラスコ培養と同じ組成の酵母エキス培地では、培養開始18時間前後（午前2～3時）には炭素源が枯渇し、細胞の自己消化が始まった。次に酵母エキスの添加量を3%から2%へ減らしたところ、今度は菌体量が不足してしまった。そこで酵母エキスに不足し、酒税法上問題ないリン酸一カリウム0.025%と硫酸マグネシウム・七水和物0.005%を添加したところ、1回のジャー培養（1.2 L）で三角フラスコ12本分（2 L）とほぼ同量の菌体量が得られた。

## 4 まとめ

本研究では、群馬県独自ブランドいちご「やよいひめ」から取得した酵母PM13を用いた地ビール醸造の実用化を行った。月夜野クラフトビール株式会社で「Princess March RONA」として商品化された。また、拡大培養酵母提供のため、ジャーファーマンターを用いた培養技術を確立した。

### 謝 辞

本研究の一部は、平成30年度 ぐんま新技術・新製品開発推進補助金の受託研究として行った。前橋工科大学の善野修平 教授には、PM13を提供して頂いた。（独）酒類総合研究所の向井伸彦 醸造技術部門長には、地ビール開発の助言を頂いた。岩手県工業技術センターの佐藤稔英 主任専門研究員には、酵母提供量を教えて頂いた。

### 文 献

- 1) 向井伸彦ら：日本醸造協会誌、93、967-975（1998）

---

---

群馬県立産業技術センター研究報告  
令和2年度(2020)  
令和3年5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

---

---