

群馬県立産業技術センター 研究報告

令和3年度

Reports of

Gunma Industrial Technology Center

2021

群馬県立産業技術センター

目 次

試験分析高度化研究

硫黄含有樹脂による金属腐食評価技術の検討	1
綿貫陽介、恩田紘樹、牛木龍二、黒崎紘史	
産業技術センター利便性向上プロジェクト	5
田中勝也、坂田知昭、関根明子、片岡 学、 小林 誠、石黒 聡、小和瀬登、町田晃平、 黒岩広樹、新井宏章、	
短期間でオーダーメイド可能な酵母拡大培養方法の検討	10
渡部貴志、柳澤昌臣	
遠隔立会い依頼試験システムの高機能化	14
水沼一英、高田 徹、遠藤庸弘	
協働ロボットと三次元測定機の連動による作業の自動化	18
狩野幹大、須田高史、小宅智史、小林興尚、 中村哲也、川原潤也、恩田正幸	
切削加工におけるナノバブル活用効果の評価手法検討	22
荻野直彦、新井宏章、青柳大志、鏑木哲志	
半導体電子材料の接合強度評価手法の検証	26
林 和、矢澤 歩	
繊維工業試験場の寸法変化率試験の寸法計測の自動化	29
河野誠司、細谷 肇	
老朽化装置の安定的な運用のための部品再生技術の開発	33
小宅智史、小林興尚、中村哲也、小谷雄二、 加部重好	

その他研究

菩提酛造りを活用した土田酒造の蔵付き清酒酵母の単離	38
渡部貴志、柳澤昌臣、榎田麻希	
土田酒造蔵付き酵母を用いた実地醸造試験と全ゲノム解析	51
渡部貴志、柳澤昌臣	

試験分析高度化研究

硫黄含有樹脂による金属腐食評価技術の検討

綿貫陽介・恩田紘樹・牛木龍二*・黒崎紘史**

An attempt to evaluation the metal corrosion by sulfur-containing resin

WATANUKI Yosuke, ONDA Koki, USHIKI Ryuji and KUROSAKI Hirofumi

硫黄含有樹脂の成形時に起こる金属腐食を再現するために、流通反応装置を用いてポリ 1,4 フェニレンサルファイド(PPS)を 300℃で加熱した際の揮発成分を金属に接触した後、炭素硫黄分析によって金属上の硫黄量を定量した。その結果、PPS 揮発成分と接触した鉄・コバルト・ニッケルの中では鉄が最も硫黄量が高く、腐食されやすいことが示唆された。さらに、窒化鉄や四酸化三鉄は鉄と比べて PPS 揮発成分と接触した時の硫黄量が少なかったことから、これらの表面処理によって硫黄腐食を抑制できる可能性が考えられた。

キーワード：ポリ 1,4 フェニレンサルファイド、硫黄腐食

In order to reproduce the metal corrosion caused by the sulfur-containing resin molding, the amount of sulfur on Fe, Ni and Co powder was quantitated by carbon and sulfur analysis after contacting with the volatile component of Poly(1,4-phenylene sulfide)(PPS) at 300 °C by using flow reactor. As a result, because Fe had the highest sulfur content, it was suggested that Fe was the most corrodible. In addition, it was conjectured that this sulfur corrosion could be suppressed by nitridization and passivation because the amount of sulfur on FeN and Fe₃O₄ after contacting with the volatile component of PPS were less than that of Fe.

Keywords : PPS、sulfur corrosion

1 緒言

近年、自動車部品の軽量化による燃費向上を目的として、金属から樹脂への代替が進んでいる。また、自動車部品への代替樹脂のうち、ポリ 1,4 フェニレンサルファイド(PPS)は耐熱性、耐薬品性が優れるため装部品やエンジン室内部品等で使用される¹⁾一方、PPS は硫黄含有樹脂であり、成形時に樹脂から発生する硫黄含有ガスが金型を腐食するという報告もある²⁾。

現状の金属部材の硫黄腐食評価方法としては、H₂S や SO₂ といった硫黄系ガスと金属部材とを接触³⁾、あるいは硫黄粉末と金属部材を恒温槽に設置することで、金属部材の外観を評価する方法が挙げられる。しかしこれらの方法はいずれも目視での評価であり、硫黄腐食の程度を定量的に評価することは困難である。

そこで本研究では、硫黄含有樹脂を加熱した際に発生するアウトガスを金属に接触させる時に発生する含硫黄成分と金属を接触させるための流通系反応装置を構築し、さらに炭素硫黄分析装置を用いて上記含硫黄成分と接触した金属について、硫黄量を定量することで、硫黄腐食の評価を試みた。さらに、酸化被膜や窒化処理といった表面処理による硫黄腐食抑制効果についても検証したので報告する。

2 方法

2.1 試料

硫黄含有樹脂として、PPS(シグマアルドリッチ製、25212-74-2)を用いた。金属試料には鉄(Fe)(富士フィルム和光純薬(株)製、平均粒径 150μm)、ニッケル(Ni)(富士フィルム和光純薬(株)製、平均粒径 150μm)およびコバルト(富士フィルム和光純薬(株)製、平均粒径

表1 金属粉末の比表面積

金属種	比表面積(m ² /g)
Fe	0.44
Co	0.47
Ni	0.44
FeN	0.41
Fe ₃ O ₄	4.5

180μm)、窒化鉄(FeN)(Alfa Aesar(株)製、平均粒径 44μm)、四酸化三鉄(Fe₃O₄)(関東化学(株)製、鹿1級)を使用した。

表1に各試料の比表面積を示す。なお、本研究で用いたFe、Ni、Co、FeNおよびFe₃O₄の比表面積を相対圧0.1、0.2および0.3の時のKr吸着量からBET法⁴⁾により求めたところ、それぞれ0.44、0.47、0.44、0.41および4.46 m²/gだった。

2.2 PPS加熱時の揮発成分採取

PPSを成形温度である300°Cで加熱した際に発生する揮発成分の採取には、図1に示すような流通反応装置を使用した。

配管には外形3.17mm(内径2.17mm)のステンレス配管(ジーエルサイエンス製、SUS316)を用い、N₂ボンベより供給されるN₂は調圧弁(ユタカ製GF1-2516-RS1-V)、マスフローコントローラー(MFC)(コフロック製、MODEL8500)により流量を50ml/minに調整した。また、加熱部にはφ12の耐熱ガラス管を用い、PPSを1g充填した。また、加熱部を電気炉を用いて300°Cで2時間加熱し、PPSからの析出物をガラス管の出口側に設置した24mm四方の大きさのカバーガラス(松浪硝子製、角カバーガラス 正方形 No.1)上に捕集した。

2.3 PPS揮発成分の金属粉末への接触

PPSを成形温度である300°Cで加熱した際に発生する揮発成分を金属粉末に接触させる場合には図2に示すような中通反応装置を使用した。加熱部のガラス管内にPPSと金属粉末を充填し、石英ウールで金属がPPSに直接接触しないようにした。なお、この時、充填したPPSおよび金属粉末の重量はそれぞれ1gお

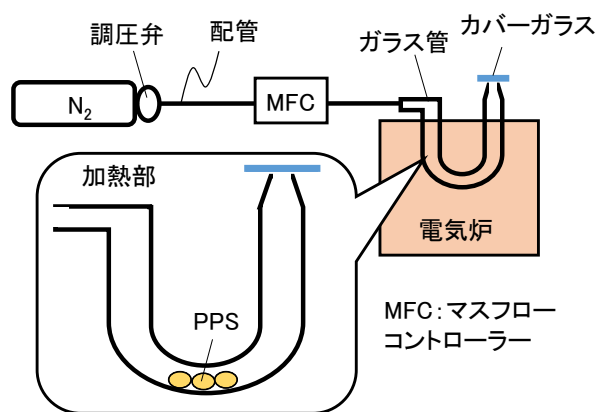


図1 流通反応装置を用いた PPS 揮発成分の採取

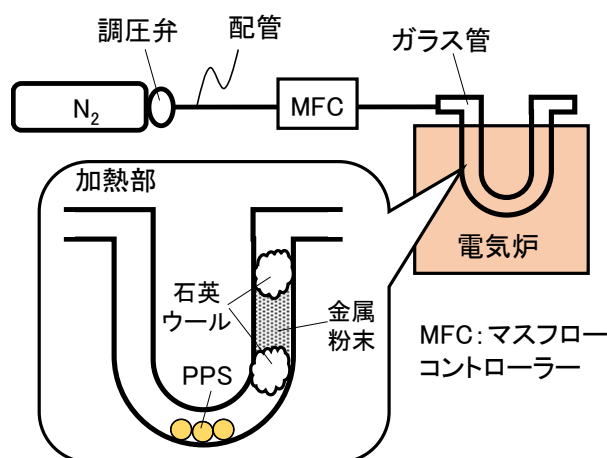


図2 流通反応装置を用いた PPS 揮発成分の金属粉末への接触

び3gとした。

PPSと金属粉末を充填したガラス管を、電気炉を用いて300°Cで1時間加熱し、PPSからの揮発成分を金属粉末に接触させた。なお、加熱時のN₂流量は50ml/minとした。

2.4 分析

熱分解ガスクロマトグラフ質量分析にはガスクロマトグラフ四重極型質量分析計(7890B GC/5977A MSD、アジレントテクノロジー(株)製)及びマルチショット・パイロライザー(EGA/PY-3030D、フロンティア・ラボ(株)製)を用いた。また、分離カラムはUltra-Alloy5(30m×0.25mmID、フロンティア・ラボ(株)製)を使用した。キャリアガスにはHeを用い、パイロライザーにおける加熱温度は300°C、カラムオープン温度は40°Cから320°C(昇温速度20°C/min)、カラム流量は1.0ml/min、スプリット比は50:1で分析を行った。なお、ライブラ

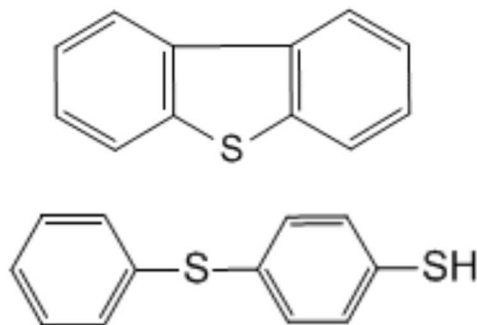


図3 PPS を 300°Cで加熱した時の揮発成分に含まれる含硫黄成分

リー検索には NIST14 を用いた。

金属粉末に含まれる硫黄量の定量は、高周波加熱炉方式による赤外線吸収法炭素硫黄分析装置 (LECO 製、CS844)を用いた。なお、試料量は 0.5g とし、助燃材としてタングステンとスズを 7:3 の割合で混合した助燃剤(LECO 製、Lecocel II)を添加した。

3 結果および考察

3. 1 PPS 加熱時の揮発成分に含まれる含硫黄物質

PPS を 300°Cで加熱した際の揮発成分を明らかにするため、2.2 に記載の方法によりカバーガラス上に付着した析出物について熱分解ガスクロマトグラフ質量分析を行ったところ、図3に示すような含硫黄物質が検出され、それ以外の含硫黄物質は検出されなかった。

PPS 製造時の主原料は硫化ソーダ(Na_2S)とパラジクロロベンゼンであることから、検出された含硫黄物質は PPS の熱分解により生成したと考えられた。また、PPS を 300°Cで加熱しても硫化水素や単体硫黄はほとんど発生しないことが示唆された。以上のことから、硫黄含有樹脂による金型の硫黄腐食はこのような PPS オリゴマーが原因物質と考えられた。

3. 2 実鋼材金属の硫黄量比較

2.3 に記載の方法に準拠して PPS 揮発成分を Fe、Ni および Co 粉末に接触した場合における金属 1mol あたりの硫黄量を図4に示す。

Fe、Ni および Co 1mol あたりの硫黄量はそれぞれ 0.71、0.25 および 0.16 mmol だった。

表1に示した Fe、Ni および Co 粉末の比表

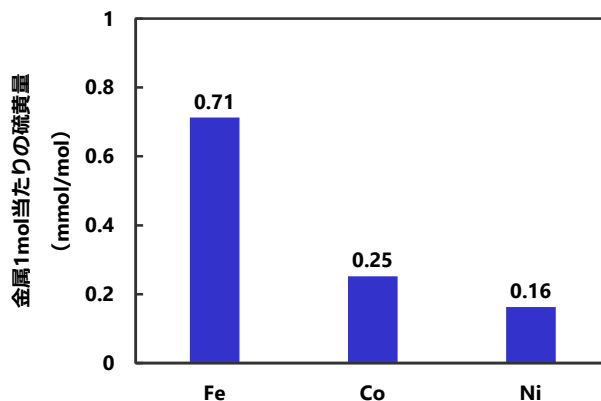


図4 PPS 揮発成分を接触した Fe、Co および Ni 1mol あたりの硫黄量

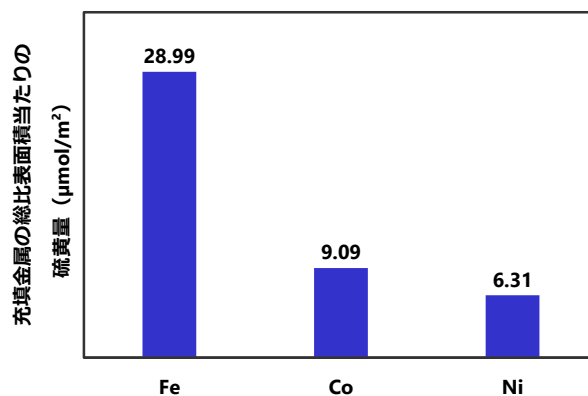


図5 PPS 揮発成分を接触した Fe、Co および Ni 1m² あたりの硫黄量

面積と実験に供した金属重量(3g)から、PPS から発生する含硫黄物質に接触した Fe、Ni および Co の総表面積はそれぞれ 1.32、1.41 および 1.32m² となる。そこで Fe、Ni および Co 粉末 1m² あたりの硫黄量を算出したところ、図5に示すようにそれぞれ 28.99、9.09 および 6.31 μmol だった。このように、今回分析した実鋼材金属では、硫黄含有量が多い順に Fe、Co、Ni であり、Fe が最も硫黄腐食しやすいことが示唆された。

また炭素硫黄分析では、金属試料上に存在する硫黄の化学状態を判別することは難しいが、PPS オリゴマーが単に金属試料上に物理吸着しているのであれば、硫黄量は比表面積に依存すると考えられる。しかし実際には金属種間で硫黄量に差がみられたことから、金属試料上の硫黄は金属と化学的に結合していると推測された。

3. 3 表面処理による腐食抑制の検証

前項にて最も硫黄腐食を受けやすいと考え

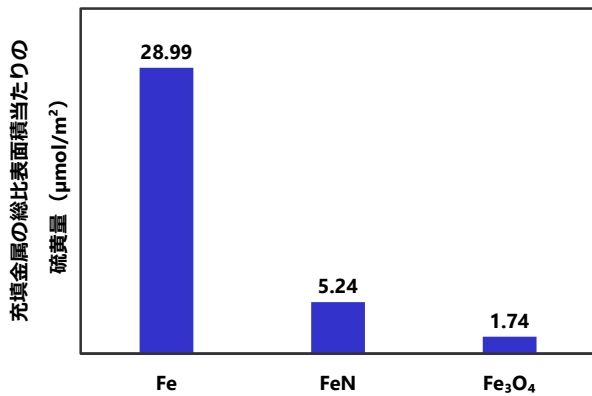


図6 PPS 揮発成分を接触した Fe、FeN および Fe₃O₄1m²あたりの硫黄量

られた Fe を用いて、表面処理による硫黄腐食抑制効果を検証するため、2.3 に記載の方法に準拠して PPS 揮発成分を接触させた Fe、FeN、Fe₃O₄1m² あたりの硫黄量を測定したところ、図 6 に示すようにそれぞれ 28.99、5.24 および 1.74 μmol だった。

FeN や Fe₃O₄1m² あたりの硫黄量は Fe のそれぞれのそれぞれ 1/5.5 および 1/16.7 だった。また、FeN や Fe₃O₄ の硫黄量は Ni や Co よりも少ないことが示された。このことから、金型表面の窒化や不働態化により PPS 成形時の金型硫黄腐食を抑制でき、特に不働態化がその抑制効果がより顕著なことが示唆された。

4 まとめ

- ・ PPS を成形温度である 300°C で加熱した時に発生した含硫黄成分は PPS オリゴマー由来であることが示唆された。
- ・ PPS より発生した含硫黄成分を接触させた Fe、Ni、Co の中では Fe が最も硫黄腐食を受けやすいことが示唆された。
- ・ PPS より発生した含硫黄成分を接触させた FeN、Fe₃O₄ では硫黄量が Fe より減少し、窒化や不働態化により PPS 成形時の金型硫黄腐食を抑制でき、特に不働態化で抑制効果が顕著なことが示唆された。

文 献

1) 高野菊雄, 現場の即戦力—これでわかるプラスチック技術, 技術評論社, pp. 92(2011)

- 2) 田村庸, 中津英司, 松本正治, 細田康弘, 遠山文夫, プラスチック成型金属材料の実用特性, 日立金属技報, 第 20 巻, pp. 63-68(2004)
- 3) 腐食防食部門委員会 TG『電子部品』, 電子部品の腐食損傷と解析, 材料, 第 40 巻, 455 号, pp.978-981(1991)
- 4) S. Brunauer, P. H. Emmett and E. Teller, Adsorption of Gases in Multimolecular Layers, J. Am. Chem. Soc., Vol. 60, No. 2, pp. 309-319(1938)

産業技術センター利便性向上プロジェクト

田中勝也・坂田知昭・関根明子

片岡 学*・小林 誠*

石黒 聡**・小和瀬登**・町田晃平**

黒岩広樹***・新井宏章***

Project of improved convenience for Gunma industrial technology center

TANAKA Katsuya, SAKATA Tomoaki, SEKINE Akiko, KATAOKA Manabu, KOBAYASHI Makoto,
ISHIGURO Satoshi, KOWASE Noboru, MACHIDA Kohei, KUROIWA Hiroki, ARAI Hiroaki

産業技術センターの利用者の利便性向上を図るため、受付スペース、エントランス所内案内体制、抗菌消毒体制及び意見集約体制の整備を提案した。本研究で受付スペースについては、タブレットを用いた電子受付システム及び依頼書印刷システムを開発した。紙の受付と比べ、受付時間を半減することができた。また、エントランスに用途ごとに5つのモニターを稼働させた。案内表示などを行い、センター内で迷う利用者の減少につながった。さらに、非接触の手指消毒体温計の導入、電子意見箱の設置により、利用者の利便性を向上した。今後さらなる、利用者目線の方策を実施していく。

キーワード：受付、デジタルサイネージ、非接触、電子意見箱

We proposed Reception space, Information system inside the entrance, Antibacterial disinfection system and Opinion gathering system in order to improve convenience for users of industrial technology center. In this work we developed of Electronic reception system and Request form printing system using tablet computer by Reception space. We halved handwriting time compared to paper reception. On the other hands, we started five monitors for each application in entrance. We could be reduced users who get lost in the center by displaying guidance etc. Moreover, we improved convenience for users by introduction of non-contact hand disinfection thermometer and installation of electronic opinion box. We will carry out for measures from the user's perspective further in the future.

Keywords : reception, Digital signage, Non-contact, Electronic opinion box

1 まえがき

群馬県では、デジタルトランスフォーメーション(DX)を推進しており、群馬産業技術センター(以下、センターという)においても、DXを活用した、利用者目線に立った利便性向上の検討を進めてきた。まず、受付に時間がかかり、受付前に人が並んでしまうことが問題となっていた。そのため、現在手書きで行ってい

る受付を電子化することで、手書きを減らし、受付時間を短縮できると考え、名刺スキャンにより手書きを削減する電子受付システム開発に取り組んだ。そして、開発したシステムを設置し、受付時間の減少について検証を行った。また、受付と併せて、依頼書の手書き時間削減のための依頼書印刷システム開発にも取り組んだ。

次に、産業技術センターの建物内には、群馬県発明協会や群馬県産業支援機構など複数の機関が同居しており、利用者が自身の目的地にスムー

ズにたどり着けない問題があった。センターに入ると、エントランスの床に各機関の案内が書いてあるが、気付かない利用者も多く、迷ったのち、センターの受付で他機関の場所を聞くという状況であった。そこで、より利用者にわかり易く案内を行うためにデジタルサイネージを導入し、行き先を表示した。そして、最も表示効果の高い置き場所の検証のために、所内で迷う利用者（行き先の照会のあった利用者）の数をサイネージの有無、異なる2箇所の設置場所にて比較を行った。また、行き先案内以外のモニターも導入し、来場者に対しセンター紹介などを実施した。

さらに、受付においては、手動ポンプ式のアルコール消毒器やガンタイプの検温器を使用していたため、接触機会が発生していた。利用者の安心・安全のために、接触機会ゼロの抗菌消毒体制の導入整備に取り組んだ。

また、利用者の意見を反映する体制整備が課題であった。これについては、Google Formsのアンケートを利用した電子意見箱を新設した。

2 方法

2.1 電子受付システム、依頼書印刷システムの構築

2.1.1 電子受付システムの開発

受付時間を短縮するために、手書きの受付を電子化する電子受付システムを開発した（図1）。本システムの機器構成を表1に示す。各機器はWi-Fiルータを経由して無線LANで接続されている。



図1 電子受付システム

表1 電子受付システムの機器構成

機器名	型式
タブレット	Apple iPad 10.2 インチ
スキャナ	富士通 ScanSnap iX100
Wi-Fi ルータ	NEC Aterm WG2600HP3
管理用 PC	MINISFORUM EliteMiNi TL50

電子受付システムは iPad のアプリとして SwiftUI を用いて開発した。このアプリでは、利用者が連絡先の入力方法として①「名刺をスキャン」、②「タブレットで記入」の2つから選択できる（図2(a)）。①は、スキャナと連動して利用者の名刺を読み取ることで、入力を省略できる方法である（図2(b)）。②は、タブレットのソフトウェアキーボードを用いて入力する方法である（図2(c)）。連絡先の入力が完了すると、健康状態入力画面に遷移する（図2(d)）。この画面では、健康状態の入力を画面の「はい」または「いいえ」ボタンのタップで完了することができ、健康状態の入力が終わると、受付が完了する。

iPad で受付を行ったデータは、iPad 内部に保存されるとともに、無線LANを経由して職員室に設置された管理用PCへと転送される。これにより、職員による受付確認作業も省力化することができた。



(a) 入力方法の選択



(b) 名刺のスキャン



(c) 連絡先の入力



(d) 健康状態入力

図2 電子受付システムの画面(a)~(d)

2. 1. 2 依頼書印刷システムの開発

電子受付システムを応用し、依頼書印刷システムを開発した(図3)。本システムは、利用者の名刺を読み取ることで、依頼者欄に名刺画像が添付された依頼書が印刷されるシステムである。これにより、依頼書の作成時間を短縮することができた。

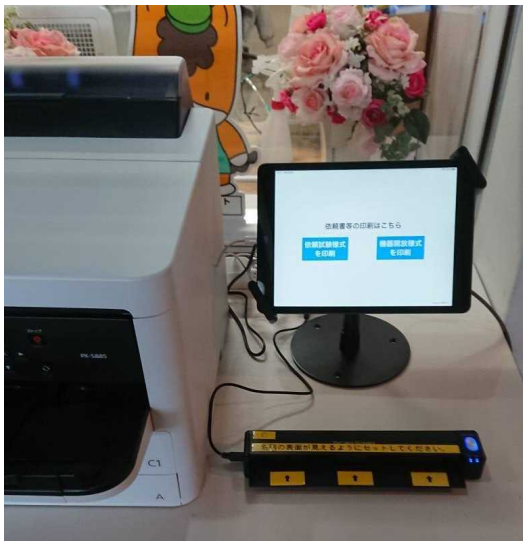


図3 依頼書印刷システム

2. 2 デジタルサイネージの活用

2. 2. 1 機器構成とシステム構築

今回導入したデジタルサイネージ及び映像出力用 PC の一覧を表2に示す。

表2 デジタルサイネージの機器構成

用途	機器名	型式
先案内 所内行き	65 型モニター (新設)	NEC LCD E658
	映像出力用 PC	エッジニティ Reevo Cube
(総合案内)	43 型モニター (新設)	NEC LCD E438
	43 型モニター (新設)	NEC LCD E438
	映像出力用 PC	MINISFORUM GK50
センター紹介	37 型モニター (既設)	三菱電機 LCD-37F4500WX
	50 型モニター (既設)	Panasonic TH-50PHD5
	映像出力用 PC	MINISFORUM GK50

新設の3機については、全て NEC 製のものとしました。当機種は、メーカーから提供されているソフト「NaViSet Administrator2」を無償で使用できる。これは機器を当ソフトがインストールされた PC と同一の LAN に接続することで、当ソフトから同 LAN に接続された全ての機器の電源や入力切替等の制御をリモートで可能とする。

映像出力には USB メモリ及び PC を接続してコンテンツの再生管理を行った。PC はセンターの LAN からリモート制御かつファイル共有機能を有効にし、PC は定時に自動起動とシャットダウンする設定とし、起動後に指定コンテンツを自動再生するシステムを構築した。以上より、職員によるコンテンツ再生や更新作業を省力化することができた。

2. 2. 2 行き先案内とセンター紹介

所内各団体の行き先を案内するデジタルサイネージを受付横及び入口正面の2か所に期間を分けて設置し、設置がなかった期間とそれぞれの設

置した期間の「窓口で行き先照会があった利用者数」（＝迷う利用者数）を集計し、デジタルサイネージによる案内の効果を設置箇所の違いを含め検証した。

また、エントランス既設のモニター2台をセンター紹介動画や、機器紹介とセンターのメルマガ案内の動画を再生するデジタルサイネージとして活用した（図4）。機器紹介とメルマガ案内の動画には、利用者に詳細を知ってもらうためにセンターHP各詳細ページURLのQRコードを表示させた。更に、センターHPにGoogleアナリティクス（アクセス解析ツール）を導入し、各QRをこのキャンペーンURLに設定することで、デジタルサイネージのQRからの各ページアクセス数を検証可能とした。



図4 センター紹介用デジタルサイネージ

2.3 安心・安全体制の整備

2.3.1 来場者の接触機会ゼロの体制

来場者が受付の際に他者も触れるものへの接触機会として、アルコール消毒時のポンプ部分、検温時のガンタイプ検温器がある。これらの接触機会をなくす体制を整備した。



図5 非接触の手指消毒体温計

2.3.2 非接触の消毒検温体制の整備

非接触での手指消毒と検温を同時に行うことのできる機器を導入した（図5）。手をかざすと消毒液が噴霧され、ひたいをかざし検温を行うものである。また、乾電池で稼働するため設置場所が限定されず、12時間検温しない場合は、自動で電源がオフになるという機能も備わっている。

2.4 電子意見箱の導入

2.4.1 意見の集約方法

今までのセンターには利用者の意見を集約する仕組みがなかった。また、センターの利便性向上のため、前述のように受付システム及び依頼書印刷システムの構築、デジタルサイネージの活用、安心・安全体制の整備に取り組んできたが、更なる改善のスパイラルアップと我々が見逃している改善点を漏らさず拾い上げることが課題であった。そのため、利用者から意見を頂くことにした。

Google Formsを使用し、図6に示すフォーマットを作成した。意見の記入欄は自由入力とし、年代の回答はチェック式で任意とした。利用者への周知は、本フォーマットにアクセスするためのWEBアドレスのQRコードを掲載したチラシを作成し、センター内に4箇所掲示した。また、

デジタルデバインドを解消するため、手書き用の用紙も受付スペース近傍に設置した。設置期間は令和3年12月20日から令和4年1月31日までとした。

〈試験運用中〉デジタルご意見箱（群馬産業技術センター）

令和3年度、群馬産業技術センターは来場者の安全・利便性向上を目的として改善に取り組んでまいりました。（取り組み内容）

- (あ) 非接触体温計・非接触手指消毒器の設置
- (い) 受付カードのペーパーレス化
- (う) 試験依頼書等の手書き省力化
- (え) 入口に行先案内をモニター表示
- (お) 受付フロアに各種センター情報をモニター表示（成果事例動画、最新導入機器、まる得通信）

○これらの取り組みの他にも、改善点がございましたらご意見をお寄せください。
○上記取り組みの更なる改善点につきましてご意見をお寄せください。

記入欄(必須回答)*

記述式テキスト(長文回答)

年代を教えてください(任意回答)

20代・30代

40代・50代

60代以上

図6 電子意見箱のフォーマット

3 結果及び考察

3.1 電子受付システム、依頼書印刷システム

電子受付システムと従来の紙による受付の受付時間の比較を表3に示す。電子受付システムの導入により、受付時間を61%削減することができた。また、電子受付システムの利用者数の推移を表4に示す。システム設置後から徐々に利用者の増えていることが確認された。システムの利用者からは、「手書きがなくなり受付がスムーズになった。」「一度使えば名刺スキャンの方が楽なので助かる。」といった意見が寄せられた。

表3 受付時間の比較

受付方法	受付完了までの時間
紙	47.0 秒
電子受付システム	18.3 秒

表4 電子受付システムの利用者数

	8月	9月	10月	11月	12月
利用者数(人)	98	156	246	292	444
割合	17 %	25 %	38 %	45 %	60 %

3.2 デジタルサイネージの活用

デジタルサイネージによる行き先案内の有無及び設置箇所の違いによる、案内した利用者数の比較を表5に示す。

表5 案内した人数の比較

設置状況	設置日数(月間)	来所総数	A	B
なし	29日(4~6)	870人	60人	2.07人
受付横	21日(7~8)	640人	28人	1.33人
入口正面	56日(6~9)	1,680人	47人	0.84人

A : 案内した利用者総数

B : 1日当たりの案内した平均利用者数

1日当たりの案内した利用者数においては、デジタルサイネージの導入により、従来の設置

なしの状況から53%減少した。更にサイネージを入口正面に設置した方が受付横に設置した方よりも少なく、設置なしと比べ59%減少させることができた。

また、センター紹介画面のQRからのアクセス数においては、Google データポータルを利用することで、図7のように特定ページの通常のアクセス数と比較する形でグラフ表示させることができた。これにより、今後、各ページのアクセス数の集計と表示QRの効果検証を効率的に行うことができる。

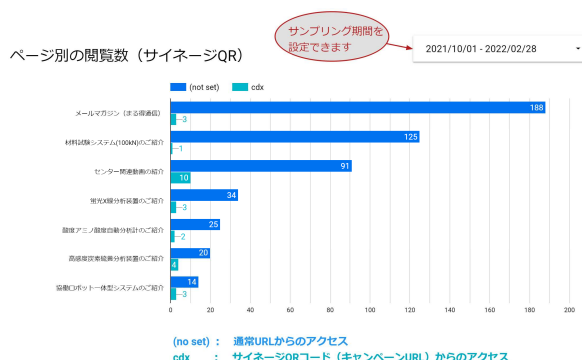


図7 各ページのアクセス結果表示

3.3 安心・安全体制の整備

非接触の手指消毒体温計の導入により、手指の消毒時及び検温時の接触機会をゼロにすることができた。また、ガンタイプの検温器では日に数回あった、使い方が分からないことでのエラー・使い方の説明も共にゼロになり、利用者の利便性向上に寄与できた。

3.4 電子意見箱

設置期間で、利用者からの意見は得られなかった。現段階までの利便性向上の取り組みが、センター利用者にとって、特段に強い要望や不満がないレベルにあるからと考えられる。したがって、今後更なる利便性向上のためには、利用者目線で、自分達で気づき改善していく必要がある。

4 まとめ

今回の各種取り組みにより、センター利用者からも使いやすくなったという意見があり、利便性向上につながったと考えられる。今後もセンターを利用する利用者目線に立った利便性向上を実施していく。

短期間でオーダーメイド可能な酵母拡大培養方法の検討

渡部貴志・柳澤昌臣

The yeast extended cultivation method which can quickly response to the order
WATANABE Takashi, YANAGISAWA Masaomi

酒質が多様化している消費者ニーズに対応するため、酒造業界から酵母拡大培養の受注期間をより短期間にするよう要望が出ている。そこで本研究では、長期間保存しても酵母が死滅しない前培養液の調製方法を検討することにした。その結果、6ヶ月間冷蔵保存していても生菌率が90%以上の前培養液を作ることになった。また、この前培養液を用いた拡大培養酵母でも清酒の小仕込み試験に影響がほとんど無いことが確認できた。

キーワード：清酒、拡大培養、生菌率、試験醸造

Because the sake quality of required by consumer is diversified, sake brewers of Gunma prefecture requested us to cultivate yeast more short time of delivery. The purpose of this study is to investigate the pre-cultivation condition which yeasts do not death with the long storage period. We succeeded to obtain the yeast pre-culture with 90% or more viable cell ratio for 6 months cold storage. Furthermore, we confirmed that almost no effect for small scale sake brewing test by the yeast extended culture using this long storage pre-culture.

KEY WORD: Japanese sake, yeast extended cultivation, viable cell ratio, small scale yeast mash brewing test

1 はじめに

清酒、焼酎、ビール、ワインなどの酒類は、ブドウ糖が酵母によってアルコールへと変換されることで醸されている。古来では果皮や蔵付きの酵母により酒類は造られてきたが、近代に入って醸造用の酵母が単離され、大量に純粋培養された酵母を酒類醸造に用いられるようになった。このことにより、雑菌汚染による腐造の危険性は大きく下がり、酒質は飛躍的に向上した。

酵母を純粋培養するためには、無菌操作設備が必要であるため、中小零細の酒類製造会社は、(公財)日本醸造協会などの外部機関が培養した酵母を購入している。また、各都道府県の公設試では、独自の酵母を管理しており、県内酒類製造会社への拡大培養酵母の提供は、非常に重要な業務で

ある。当センターでは、群馬県独自の清酒用酵母である群馬KAZE酵母¹⁾や群馬G2酵母²⁾、群馬227酵母³⁾だけでなく、清酒製造会社が取得した自社酵母の管理を行っている。近年では、群馬県独自いちご「やよいひめ」から単離した酵母⁴⁾も地ビール会社に提供している。

これまで当センターでは、12月までに翌年4月までの酵母培養スケジュールをとりまとめていた。しかしながら近年は、様々な清酒酵母が開発され、地酒ブームにより消費者から求められている酒質も多様化している。このことから、清酒製造会社からは、発注期限を2週間前までに短縮して欲しいという要望が出てきた。

酵母拡大培養は、①休眠化させている酵母細胞を寒天培地から液体培地へ接種、菌体量を増やす前培養を行い、②そのリフレッシュした酵母細胞を一定の菌体量となる

ように培養する本培養という流れで行う。現在は、培地の作成に要する時間を除いても約10日間かかる。もし、6ヶ月間以上の長期間で、前培養液中の酵母細胞の生菌率が90%以上と高く維持できる保存方法を見つけることができれば、受託から本培養をするだけで良くなり、約4日間まで短縮させることが可能となる。

そこで本研究では、企業ニーズへの対応を迅速化し、同時に拡大培養に要する業務の効率化を目的に、短期間でオーダーメイド可能な酵母拡大培養方法を検討したので、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

群馬県独自酵母である群馬G1酵母(G1)、群馬G2酵母泡無し株(G201)、群馬KAZE酵母2号(KAZE2)は、県内清酒製造会社に頒布しているスラントのものを使用した。また、県内清酒製造会社の自社酵母の中で、増殖性が悪く拡大培養に時間がかかるA株を使用した。

酵母の前培養および拡大培養には、秋田今野の冷凍濃縮麴エキス(Brix 20°)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_2PO_4 0.5 g/L、 K_2HPO_4 0.5 g/Lを加えた希釈麴エキス培地を用いた。酵母菌体を増殖させる培養には、2×YD培地(ミーストP1G(アサヒフードアンドヘルスケア) 20 g/L、グルコース 40 g/L)を用いた。それぞれの培地は、調製後に121°C、15分間の加温加圧滅菌を行った。

2.2 前培養酵母の保存試験

県内清酒製造会社に拡大培養酵母を提供するのと同様に、希釈麴エキス培地5 mLを含む試験管に酵母を一白金耳接種し、30°Cにて24時間、150 rpmの往復振とう培養を行ったものを通常の前培養液とした。

長期保存に向けた前培養液の調製では、2×YD培地100 mLを含む300 mL容三角フラスコに酵母を一白菌耳接種し、30°Cにて24時間、150 rpmの往復振とう培養を行った。得られた培養液を5 mLずつ15 mL容チューブに分注し、8000 rpm×10分間

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)	12	68	200	30	310

の遠心分離を行った。沈殿した菌体を希釈麴エキス培地5 mLに再懸濁し、30°Cで24時間の静置培養を行い、これを長期保存用の前培養液とした。

それぞれの培養液を4°Cの冷蔵庫で保存し、培養直後、1、2、4、8、12、24週間後にメチレンブルー染色法⁵⁾により、酵母の生菌率を分析した。

2.3 小仕込み試験

令和2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の小仕込み試験を行った。酵母の拡大培養は、通常の前培養液5 mL、または24週間(6ヶ月間)冷蔵保存した長期保存用の前培養液1 mLを希釈麴エキス培地500 mLに接種し、30°Cで3日間静置培養した。また、KAZE2については拡大培養液を6ヶ月間冷蔵保存したものも用いた。これらの拡大培養液1 mLを酒母の代わりに用いた。

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。なお、汲水は水道水を用い、酒母用加工水として水道水に KH_2PO_4 1.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L、 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L、NaCl 0.15g/L、乳酸 5 mL/L加えたものを10 mLと99.5%エタノール1 mLを用いた。もろみ温度は、15°C一定で行った。掛米は洗米後、35%吸水率となるように浸漬し、蒸籠で蒸したものを用いた。追水は、6、12、15日目に10 mLずつ計30 mL行った。上槽は、18日目に遠心分離により行った。

2.4 分析方法

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。アルコール分(エタノール)は、アルコメイト(理研計器(株))により簡易分析を行った。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、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. 5 実地試験醸造

県内酒造会社3社にそれぞれ使用する酵母を変えて実地試験醸造を委託した。当センターで通常の前培養液と長期保存用の前培養液を用いて拡大培養を行い、同規格の清酒造りに用いて頂いた。

3 結果と考察

3. 1 前培養液の長期保存化

(公財)日本醸造協会では、用事調製の拡大培養酵母だけでなく、1年間保存できる粉末酵母やアンブル酵母も提供している。粉末酵母は、大量培養した菌体を回収し、酵母が死滅しない条件で乾燥化させる必要がある、大型設備投資が必要である。一方、アンブル酵母は、ガラスのアンブルに酵母が液体の状態です封入されているため、当センターでも同様のものが作れると考えた。しかしながら、その調製方法は企業秘密で報告例がないため、培養条件を検討することにした。

微生物研究において、酵母の培養に用いられる培地は、その目的によって組成が大きく異なる⁶⁾。YPD培地は、窒素源やビタミン成分が多く、酵母は早く増殖することができる。しかしながら、エネルギー源である炭素源が相対的に低く、増殖した酵母の死滅は早い。一方、PDA培地は、窒素源やビタミン成分は少ないが、相対的に炭素源が多いため、酵母の寒天培地上での長期保存に向いている。これらの情報から、まず富栄養の2×YD培地で酵母菌体を増殖させて回収し、炭素源が豊富な希釈麹エキス培地で培養すれば、長期保存可能な前培養液が得られると推測した。

まず、KAZE2を用いて予備試験を開始し、6ヵ月後に生菌率を調べたところ、90%以上の高い値を維持していた。そこで、KAZE2に加え、G1、G201、A株を用いて、通常の前培養液と長期保存用の前培養液を冷蔵保存し、生菌率の経日変化を調べた。通常の前培養液では、生菌率が冷蔵保存と共に急激に下がり、8週間後には全ての株で20%以下となった(図1A)。また、G1、

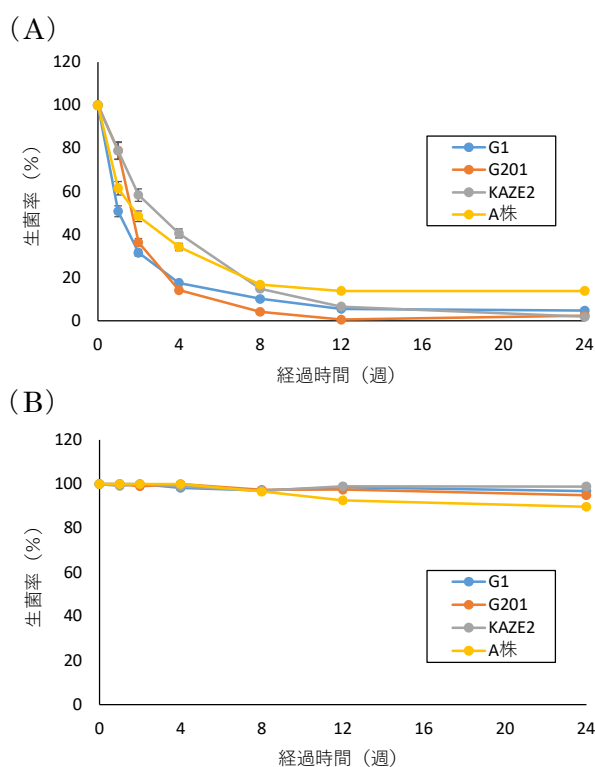


図1 各酵母の生菌率の経時変化

(A) 通常の前培養液を4°Cで冷蔵保存した生菌率の変化。(B) 長期保存用の前培養液を4°Cで冷蔵保存した生菌率の変化。独立した3回の試験の平均値と偏差値。

G201、KAZE2については、8週間後以降も生菌率は低下していったが、A株は24週間後(6ヶ月間)で13.9%の生菌率であった。一方、長期保存用の前培養液の生菌率は、ほとんど低下せず、G1、G201、KAZE2は6ヶ月間後で94%以上の生菌率であった(図1B)。A株も同様の傾向ではあるが、6ヶ月間後に89.7%の生菌率であった。

3. 2 醸造特性に与える影響評価

先の検討により、少なくともG1、G201、KAZE2、A株の前培養液の生菌率が6ヶ月間高い値を維持できる方法が分かった。この前培養液を用いて拡大培養した場合、通常の前培養液を用いたものと比較して、酵母の醸造特性に影響が出ないことが実用化に不可欠である。そこで、新たにG1、G201、KAZE2、A株の通常の前培養液を作成し、6ヶ月間保存した長期保存用の前培養液と同時に拡大培養を行い、小仕込み試験を行うことにした。重量減少量や醸造特性は、前培養液間ではあまり変化がない

表2 小仕込み試験での醸造特性

平均	重量減少量 (g)	日本酒度	酸度 (mL)	アミノ酸度 (mL)	アルコール分 (%(v/v))	Glucose (%)	Maltose (%)	イソアミルアルコール (ppm)	酢酸イソアミル (ppm)	カブロン酸エチル (ppm)	酢酸エチル (ppm)	イソブチルアルコール (ppm)	E/A
G1通前	70.63	-0.7	2.9	1.7	18.7	1.4	1.0	204.2	8.3	0.7	119.7	82.1	4.1
G201通前	66.69	-9.1	3.2	1.8	17.2	2.0	1.3	232.9	7.6	0.6	81.0	126.6	3.3
KAZE2通前	67.76	-7.5	2.8	1.8	16.9	2.0	1.2	199.5	6.8	3.8	74.7	101.9	3.4
A株通前	57.24	-22.5	2.6	1.7	15.0	3.8	1.8	185.7	2.3	4.8	40.0	61.9	1.3
G1長前	70.61	-0.8	2.7	1.8	18.5	1.4	0.9	201.1	8.3	1.0	118.6	77.8	4.1
G201長前	66.72	-9.7	3.1	1.8	17.0	2.1	1.3	230.8	7.6	0.7	78.7	122.2	3.3
KAZE2長前	68.07	-3.0	2.5	1.8	18.1	1.7	1.1	198.2	8.0	4.7	94.0	92.8	4.1
A株長前	56.63	-24.0	2.6	1.7	14.7	3.8	1.8	184.7	2.1	4.7	40.3	60.3	1.2
KAZE2長拵	65.87	-12.1	2.8	1.6	16.3	2.5	1.5	189.0	3.8	3.0	42.9	84.6	2.0

通前：通常の前培養液を用いた拡大培養液、長前：長期保存用の前培養液を用いた拡大培養液、長拵：6ヶ月間冷蔵保存した拡大培養液、2回の独立した試験の平均値。

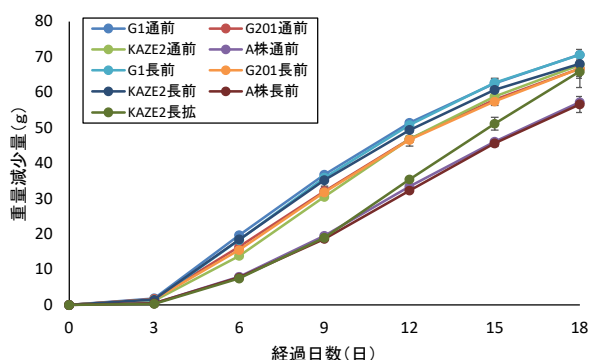


図2 重量減少量の変化

2回の独立した試験の平均値と偏差値。

ことが認められた（表2、図2）。このことから、前培養液を長期保存のものに変更しても、実際の酒造りには影響が少ないと予測された。一方で、拡大培養液を6ヶ月間冷蔵保存したKAZE2は、生菌率が41%まで下がっており、初期の重量減少量が少なかった。このことから、拡大培養液の作り置きは難しく、前培養液からオーダーメイドする必要が認められた。

3.3 実地醸造試験による評価

さらに実用化を検討するため、用いる酒米と精米歩合など同規格の清酒を複数造る酒造会社3社に実地醸造試験を委託することにした。酒造会社間において、用いる酵母と酒米は異なるようにした。

それぞれ、前培養液の違いによって、もろみ日数や、醸造成分に多少の差が認められた（表3）。これは、実地醸造では同時に複数の仕込みは行えないので、時期の連れによる気候の影響が大きいと考えられた。また、酒造会社からは、酒造りには大きな影響は無かったと感想を頂いている。これらのことから、長期保存化させた前培養液を用いても実用上問題ないと考えられた。

表3 実地醸造試験のまとめ

	もろみ日数 (日)	日本酒度	アルコール分 (%(v/v))	グルコース (%)	酢酸イソアミル (ppm)	カブロン酸エチル (ppm)
A 対照	23	+11.3	17.0	1.5	1.6	5.4
A 長期	25	+7.6	16.8	2.1	0.9	4.1
B 対照	26	-2.0	16.1	2.6	1.2	7.1
B 長期	28	-0.8	16.0	2.3	1.1	8.0
C 対照	22	-2.0	17.0	1.9	2.2	2.2
C 長期	23	-3.3	17.2	1.8	1.8	3.5

4 まとめ

本研究では、酒造会社の要望である短期間でオーダーメイド可能な酵母拡大培養方法を確立するため、前培養液を長期保存可能にする培養条件を検討した。その結果、6ヶ月間冷蔵保存しても生菌率がほとんど下がらない条件を見出した。また、実地醸造試験により、前培養条件を変えても酵母の醸造特性に問題ないことを確認した。

文献

- 1) 上山 修ら：平成13年度群馬県工業試験場研究報告、39-43
- 2) 増淵 隆ら：平成24年度群馬産業技術センター研究報告、38-41
- 3) 増淵 隆ら：平成21年度群馬産業技術センター研究報告、12-14
- 4) 渡部貴志ら：令和2年度群馬産業技術センター研究報告、29-33
- 5) 後藤邦康ら：日本醸造協会誌 81、189-193 (1986)
- 6) 渡部貴志：日本生物工学会誌 98、623 (2020)

遠隔立会い依頼試験システムの高機能化

水沼一英・高田徹・遠藤庸弘

Enhancing the functionality of the Remote Witness Request Test System
MIZUNUMA Kazuhide, TAKADA Tohru, ENDO Nobuhiro

昨年度構築した遠隔立会い依頼試験システムについて、機器導入やアプリケーション開発を行い、より効率的な運用を行った。

キーワード：遠隔、依頼試験

We have introduced equipment and developed applications for the remote witnessing request testing system that we built last year, to make it more efficient.

Keywords : remote, request testing

1 まえがき

令和2年度に「遠隔立会い依頼試験システムの構築」のテーマで通信を利用した遠隔立会いによる依頼試験システムを構築したが、非効率的な部分があった。

今回、これを改善し、より効率的な運用を目指した。

2 方法

2.1 課題

現行の遠隔立会い依頼試験システムでは、ネットワーク会議システム(Web 会議システム)を利用して、遠隔で測定者(産技センター職員)と利用者としてビデオ通話しながら測定等を行っているが、ここで以下のような課題が出てきた。

- ① 試験品のセッティング等の際、測定者がノート PC を背負ったり、他の機材を手持ちして作業を行うため、負担がかかり、効率が悪い。
- ② 測定者-利用者間のやり取りにおいて、無駄な作業がある。たとえば、PDF のマニュアルを見ながらセッティングする等の

場合、セッティング途中で別の PC の前まで行って PDF ファイルを閲覧する必要がある、など通信用 PC とその他作業用 PC とで行き来して閲覧・操作が必要なことがある。

- ③ 測定者-利用者間での試験品の詳細確認において奥行き方向の確認等に支障を来す場面がある。

2.2 解決策

上記課題を解決する方法として、次のような解決策を検討した。

- ① 測定者の負担
→ 一番重量のあるノート PC を、小型・軽量のデバイスを導入し、置き換える。
具体的には、近年、高性能化・高機能化が進んでいるシングルボードコンピュータを導入することで、ノート PC を置き換える。
- ② 測定者-利用者間のやり取りでの無駄な作業
→ 通話しながら複数メディアを一括集約(PDF 閲覧等)可能な端末を導入する。
具体的には、MR(Mixed Reality; 複合現実)端末を導入し、通信を行いつつ PDF ファイル等を閲覧する。
- ③ 奥行き方向の確認
→ 3D 映像を配信する。
具体的には、ステレオカメラを利用して 3D

映像を配信するシステムを開発する。

3 結果

3.1 小型・軽量化デバイスの導入

今回、ノート PC を置き換えるデバイスとして表 1 に示す 2 種類を試用した。

表 1 ノート PC を置き換えるデバイス

機種	特徴
Raspberry Pi 4 (Model B)	ラズベリーパイ財団によって、教育目的で開発された。汎用性が高い。
Jetson Nano (開発キット)	NVIDIA 社が開発。GPU での高速並列処理により機械学習等で利用されている。

両者はいずれも 1 つの基板上に必要な機能が実装されたシングルボードコンピュータであり、PC にくらべて小型・軽量である。また、PC と同様に OS を搭載し、ネットワークや Web カメラ等の周辺装置も使用することができる。このため、ノート PC の置き換えに最適である。一方、処理能力等の性能は PC に劣る。

表 2 に、PC とシングルボードコンピュータの重量やサイズの比較を示す。なお、ノート PC は実際に遠隔立会い試験で使用しているマウスコンピュータ製 mouseX4-i7 のデータであり、また、シングルボードコンピュータのバッテリーは、AUKEY 製モバイルバッテリーで 10000mAh、200g、93x63x22mm という仕様のものである。表中、重量はバッテリーとケースの重さを含み、サイズは本体のみのサイズとなっている。

表 2 PC/シングルボードコンピュータ比較

項目	ノート PC	Raspberr Pi 4	Jetson Nano
重量(g)	1130	369	450
サイズ(mm)	320x214x17	85x56x17	100x80x29
バッテリー	12 時間	2-3 時間	2-3 時間
その他	Intel Core-i7 1.80GHz	ARM A72 1.5GHz	ARM A57 1.43GHz/ GPU:128core
参考価格	15 万円程度	9 千円程度	1 万数千円

ここでは、シングルボードコンピュータに

ついて、PC と同様のネットワーク会議システムによる通信が実用に耐えるかを検証した。具体的には、実際にネットワーク会議システム (Zoom) を使用して、通信遅延時間を測定した。実験では、通信時間帯を午前中、昼過ぎ、夕方に分け、それぞれ 100 回の試行を行った。また、Raspberry Pi 4 は内蔵の WiFi 機能を、Jetson Nano は USB 接続の WiFi 子機(tp-link 社 AC600) を使用して、産業技術センターの LAN 経由でインターネットへ接続した。結果を表 3 に示す。また、ノート PC については昨年度に類似の測定を行った結果を参考として表 4 に示す。

結果から Raspberry Pi 4 も Jetson Nano も遅延時間は 1 秒未満で大きなばらつきもなく、ネットワーク会議システムでの使用においては、全く問題がないことが分かった。このため、シングルボードコンピュータを使用して目標である小型・軽量化による負担軽減が行える。

表 3 遅延時間(秒)

時間帯	項目	Raspberr Pi 4	Jetson Nano
午前中	平均	0.4	0.5
	標準偏差	0.1	0.1
昼過ぎ	平均	0.4	0.6
	標準偏差	0.1	0.3
夕方	平均	0.5	0.9
	標準偏差	0.1	0.1
全体	平均	0.5	0.7
	標準偏差	0.1	0.2

表 4 ノート PC の遅延時間(秒) (参考)

平均	標準偏差
0.9	0.5

ただ、今回、次のような課題も見つかった。

- モバイルバッテリーを使用するため、稼働時間は数時間
- ネットワーク会議を開始する際に、モニタやキーボードによる操作が必要

前者は、小型・軽量化のためには、割り切った運用をする必要があるため、改善は困難と考える。後者は、ネットワークを利用したリモート操作を利用することで、解決可能である。ただこのためには、ネットワーク上のシングルボードコンピュータを特定する必要があるため固

定アドレスを使用したり、Avahi 等の名前解決システムを使用する必要がある。

3. 2 複数メディア一括集約可能な端末の導入

今回、通話しながら PDF 閲覧等の別の作業を 1 台に一括集約できる端末として Microsoft 社の MR 端末である HoloLens2 を導入した。MR 端末はメガネ型ヘッドセットで、レンズ部が半透明のモニタになっており、実世界にコンピュータ映像を投影できるデバイスである。

図 1 に MR 端末を装着し試用している様子を、図 2 に装着者が見ている画面を示す。これは、MR 端末装着者が試験装置の PDF マニュアルを見ながら実際の試験装置本体を操作する様子である。MR 端末にはマイクやスピーカーも搭載されており、通信相手である PC とは、音声のやり取りも相互に行える。

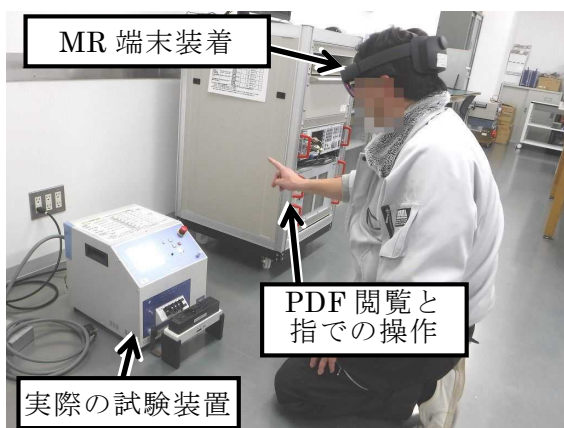


図 1 MR 端末の試用の様子

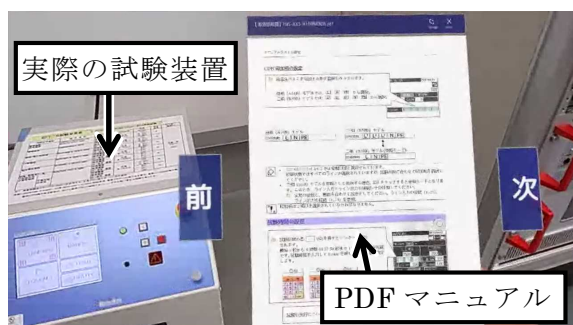


図 2 MR 端末装着者の画面

このように、デジタルファイル等を閲覧しながら実物の装置の操作を行い、通話も可能であることから、今回の目標である複数メディアを 1 台の端末上に一括集約することが実現できた。また、MR 端末は、頭に装着する

ヘッドセットのみで完結していることから、1 つ目の目標である小型・軽量化も実現可能である。さらに、応用として MR 端末装着者に対して通信相手の PC から指示等ができるため、遠隔による「操作研修」も可能なことが分かった。

ただ、今回使用したソフトウェアは、認証キーとなる USB ドングルを通信相手の PC に挿しておく必要があるため、外部での使用はせず、所内 LAN でのみの運用となる。また小型・軽量化の影響としてバッテリー駆動時間はメーカー仕様にて 2~3 時間となっているが、モバイルバッテリー等を使用することで延長は可能と思われる。

なお、今回、別の試験への展開として、3D CAD データを投影する試行もおこなった。3D モデルを拡大や縮小、回転等により、詳細に閲覧することが可能で、3D CAD データを扱う別試験への展開の可能性が確認できた。

3. 3 3D 映像の配信

映像を 3D 化するには、ステレオカメラの使用が一般的である。今回は、Web カメラを 2 台使用してステレオカメラとして構成し(図 3)、2 台の Web カメラ画像を合成して 3D 映像化するアプリケーションを開発した。表 5 に開発環境を示す。



図 3 Web カメラ 2 台によるステレオカメラ

表 5 開発環境

項目	内容
開発言語	Visual C# (Visual Studio 2019)
ライブラリ	OpenCvSharp 4.5.1 (OpenCV の C#向けラッパ)

また、映像の配信には Zoom の画面共有機能を使用した。図 4 に今回開発した 3D 映像アプリケーションによる画面例を示す。



図4 3D映像の例

この映像の受信側は、スマートフォンとそれを装着できるVRゴーグルを使用した(図5)。これにより、個人や会社所有のスマートフォンが使用できれば、数千円程度のVRゴーグルのみ準備すれば良く、非常に安価に3D映像配信が可能となる。



図5 VRゴーグルとスマートフォン

課題としては、以下が見つかった。

- 2台のWebカメラの画角の微調整に手間がかかる
- いわゆる「3D酔い」がある

前者は、今回は、水平の直線を含む風景を映した状態で手動で微調整を行ったが、将来的には、調整用パターンを撮影するだけで微調整が完了するような、ソフトウェアによる微調整機能を実装したい。このように、自前で開発したアプリケーションであるため、柔軟に機能改善等が行える。

課題の2番目の「3D酔い」は視覚情報と実際の身体の動きとのズレなどが原因とされるため、完全な解決策はないが、ジンバルを利用して手ブレを減らしたり、高解像度化・高レート化することで滑らかな映像にするなどで軽減できるかもしれない。ただし、映像配信を行うネットワーク会議システムも、高解像度、高レートに対応している必要がある。

今回、昨年度の研究で出た課題のいくつかを解決し、遠隔立会い試験の利便性が向上した。1つは、デバイスの小型・軽量化により測定者の負担を軽減したことで機動性が向上した。もう1つは、MR端末の導入や、3D映像により、相互の情報伝達性が向上した。さらにもう1つは、MR端末により複数コンテンツを1台に集約することで、手間を省き、迅速性が向上した。

また、他用途への応用としては、MR端末に関して、遠隔による操作研修への利用が可能であることが分かり、さらに3D CADデータを扱う分野への展開の可能性が確認できた。

今後は使用方法や得られたノウハウをマニュアル化し、正式運用を開始したい。また、他試験・他用途への展開や開発アプリケーションの改善・機能向上を行い、利用者のさらなる利便性向上に努めたい。

協働ロボットと三次元測定機の連動による作業の自動化

狩野幹大・須田高史・小宅智史*・小林興尚*

中村哲也*・川原潤也**・恩田正幸**

Work automation by interlocking collaborative robots and CMMs
KANO Motohiro, SUDA Takashi, OYAKE Satoshi, KOBAYASHI Okihisa
NAKAMURA Tetsuya, KAWAHARA Junya, ONDA Masayuki

近年、ものづくりの現場では人手不足が深刻な問題となっており、これを解消するため協働ロボットによる軽作業の自動化が注目されている。本研究では協働ロボット活用のモデルケースとして三次元測定機と連携させ、測定業務を自動化し無人運転を可能とするシステムの構築について検討を行った。

キーワード：協働ロボット、三次元測定機、自動化

Recently, labor shortages have become a serious problem in the manufacturing industry, and the automation of light work using collaborative robots has attracted attention as a solution to this problem. In this study, as a model case for the use of collaborative robots, we examined the construction of a system that can automate measurement tasks and enable unmanned operation by linking it with a CMM.

Keywords : collaborative robot, coordinate measuring machine, automation

1 まえがき

近年、ものづくりの現場で深刻化している人手不足を解消するための手段として、協働ロボットが注目されている。

従来の産業用ロボットは人の作業と分離し、安全柵で囲んで設置する必要があるなど、設置スペースや導入コストの面から導入できる企業はごく一部に限られていたが、2013年の規制緩和により、国際標準化機構（ISO）が定める規格に準じた措置を講じることで、安全柵なしでロボットを設置することが可能となったことや、アプリケーション開発が進み直感的な操作で利用できるロボットが登場したこと、ロボット本体のコスト削減が進んだなどの理由から、導入や運用の負担が大幅に低減し、大企業のみならず中小企業でもロボットが導入しやすくなった。このような背景から、国内でも協働ロボットの開発や導入が進みつつある。

また、ロボットは夜間や休日も稼働すること

が可能であり、単純作業をロボットで行う仕組みづくりを行うことにより、人手不足の解消や生産性の向上への効果が期待される。

本研究では、協働ロボットによる作業の自動化のモデルケースとして、寸法や形状の精密測定に使用する三次元測定機（以下、CMM）との連携を行った。多数の同一形状のワーク測定において、ワークの設置から測定、取り外しまでの一連の作業を自動化し、無人運転を可能とするシステムを構築し、協働ロボットの効果的な活用方法について検討を行った。

2 方法

2.1 協働ロボット

本研究では、協働ロボットとして㈱レステックス製 TM-REX5900(図1)を使用する。

本システムは TECHMAN ROBOT 社製、TM5-900 をベースとしたモデルになっており、軸数は6軸、アーム長が900mm、最大可搬質量（ハンド含む）は4kgである。

標準ハンドは電動 2 爪グリップとなっていて、グリップやフランジ部分が簡単に着脱でき、ワークや用途に応じてカスタマイズしての運用が可能である。



図 1 協働ロボット一体型システム
TM-REX5900

2. 2 三次元測定機 (CMM)

ロボットと連携させる CMM は株式会社ミツトヨ製 LEGEX9106 とする。

装置の外観を図 2 に示す。本装置は門固定型の CMM であり、Y 軸移動はテーブルが移動するタイプの測定機であり、あらかじめ測定内容に応じたプログラムを作成し、実行することでワークの自動測定を行う。



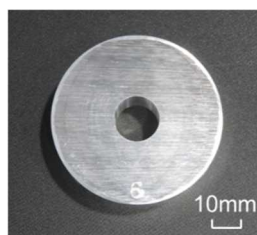
図 2 三次元測定機 LEGEX9106

2. 3 ワークの自動測定

測定対象ワークは図 3 のような円筒形のアルミニウム製の切削加工品とし、このワークに対して内径の輪郭形状の測定を行う。

複数のワークを指定エリアの任意の位置に配置した状態から、ロボットのカメラでワークの認識を行い、把持して搬送、CMM 上の治具に設置して測定を実施後、ワークを取

り外すまでの一連の流れを全て自動で行う。ワークの測定が完了したら自動で次のワークの測定を開始するようなシステムを構築し、測定の完全自動化を実現する。



材質	アルミニウム製
外径	60mm
内径	16mm
厚み	約20mm
質量	約140g

図 3 測定対象ワーク

2. 4 ハンド先端形状の検討

前述の通りロボットハンドの先端部であるグリップはワークに合わせて変更可能であるが、標準のグリップはグリップ間の最大距離がワーク外径の 60mm より小さく把持ができない。そこで既存のグリップと交換する形で装着可能な新たなグリップを設計し、作製することで対象ワークの安定した把持を行う。

2. 5 協働ロボットと CMM の連携

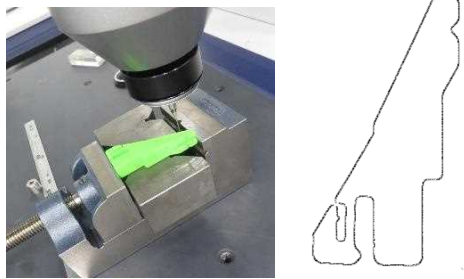
測定作業を完全自動化するためには、ロボットが CMM の状態を確認したり、トリガとなる信号を入力するなど、協働ロボットと CMM の間で何らかの形で状況に応じた信号の入出力をする必要がある。

完全な無人運転による自動測定では装置間の連携にエラーが発生した場合、測定が停止したり、誤動作による衝突等の事故を引き起こす可能性もある。ロボットと測定機間の同期は極めて重要であることから、確実性が高く、可能な限り簡単に実現できる連携手法について検討を行う。

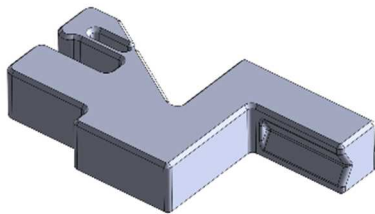
3 結果

3. 1 専用ハンドの作製

標準グリップの輪郭形状を CMM で測定し、得られたデータを基に先端の開いたグリップを 3D CAD で設計した。測定の様子と測定結果、設計したグリップの 3D モデルを図 4 に示す。このモデルを熱溶解方式の 3D プリンタを利用して ABS 樹脂による造形を行った。造形の様子と造形したグリップを図 5 に、ロボットハンド先端に装着した写真を図 6 に示す。



(a) CMMによる形状測定



(b) 設計したグリッパ

図4 グリッパの測定と設計

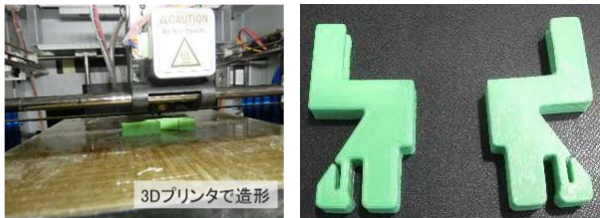


図5 グリッパの造形

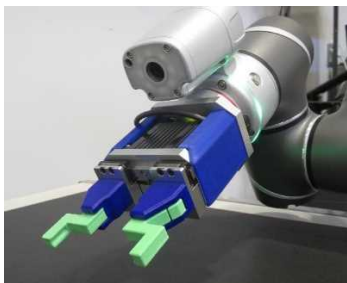
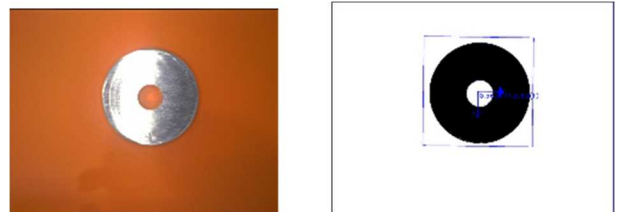


図6 対象ワーク用ハンド

3.2 ワークの認識と把持

ワークを把持するためにはワークの位置を正確に認識する必要があり、安定した画像認識を実現することが重要である。

対象ワークは光沢のあるアルミニウム製のため、室内の照明など外乱光の影響を受けやすい。そこで、背景に彩度の高い色を採用することで、ワークと背景との境界を鮮明にし、影響を受けにくくしたところ、安定してワークの中心座標を認識可能な画像認識のアルゴリズムを構築することができた。実際のワークを撮影した入力画像とその認識結果を図7に示す。



(a) カメラ画像

(b) 認識結果

図7 ワークの認識

3.3 協働ロボットとCMMの連携

協働ロボットとCMMの各装置について、全自動で動作するプログラムの作成を行った。全体の簡単な制御の流れを図8に示す。

協働ロボット側にはデジタル信号の入出力機能が備わっている一方、CMMには外部信号の入出力の機能がないことから、装置間の連携を確実にするためのトリガ信号をどのようにやりとりするかについて検討を行った。

複数の方法を検証した結果、CMMから協働

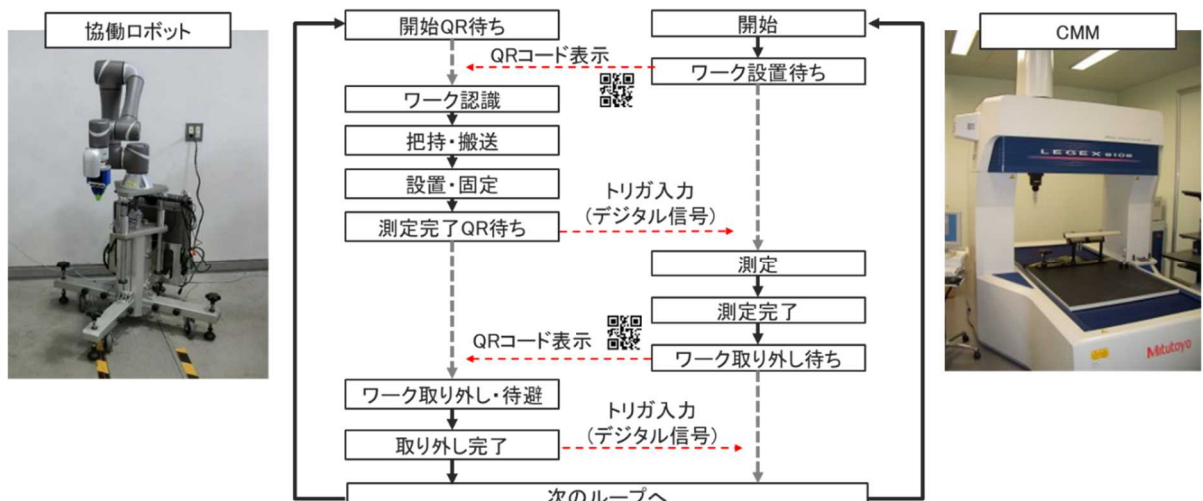


図8 協働ロボットとCMMの連携フロー

ロボットへの入力は CMM 側のモニタ上に QR コードを表示したものをロボットに認識させる方法、協働ロボットから CMM への入力はデジタル信号出力をキーボード入力に変換し入力する方法が装置間のトリガ信号を簡単かつ確実に入出力できるという結果が得られたため、これらの方式を採用することにした。

3. 4 動作検証実験

協働ロボットと CMM を図 9 のように配置してシステムを構築し、動作検証を行った。

複数のワークを配置し、構築したシステムについて動作検証を実施したところ、ワークの認識、把持、搬送、設置、測定、取外しまでの一連の流れについて安定した動作が得られた。動作検証の様子を図 10 に示す。以上により、協働ロボットと CMM を連携させた測定作業の完全自動化を実現することが

できた。

4 まとめ

本研究では協働ロボットと CMM を連携し、ワークの設置、測定および取外しまでの一連の動作の自動化について取り組みを行った。

協働ロボットは汎用性が高く、ハンド先端（エンドエフェクタ）やプログラムを変更することで、異なる形状のワークや測定機、作業に適用することも可能である。

当センターではロボットの制御に加え、計測機器との連携や、簡易なハンドや治具の作成もワンストップで対応可能であることから、今後は本研究で得られた知見を活用し、県内中小企業への協働ロボット導入支援を進めていく予定である。

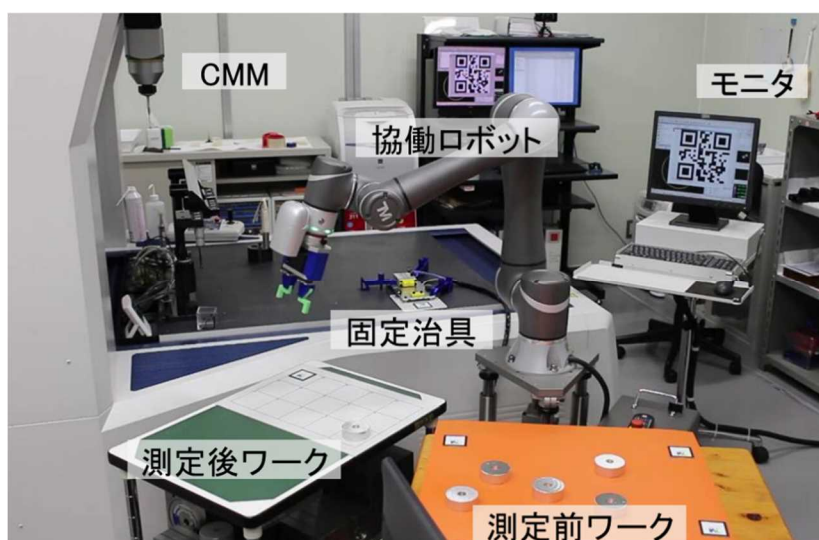
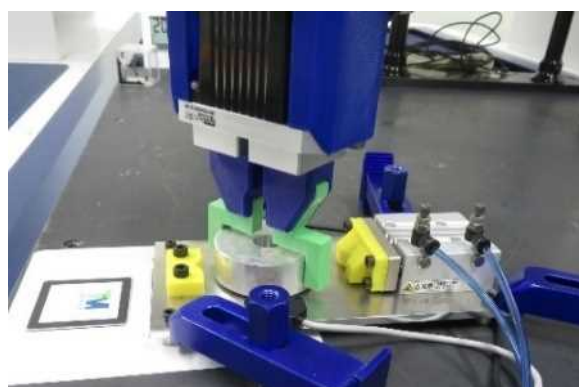


図 9 協働ロボットと CMM の連携システム



(a) ワークの把持と CMM への設置



(b) 測定の様子

図 10 システムの動作検証

切削加工におけるナノバブル活用効果の評価手法検討

荻野直彦・新井宏章*・青柳大志・鏑木哲志*

Examination of evaluation method for the effect of utilizing
nanobubbles in machining

Naohiko OGINO, Hiroaki Arai, Hiroshi Aoyagi, Tetushi Kaburagi

近年の高付加価値材料の切削加工では仕上げ面粗さだけでなく仕上げ面内部物性への影響を考慮した加工が求められており、切削温度の制御・抑制技術は重要である。本研究ではナノバブルを含む切削液の切削温度抑制の可能性を調べるため、ナノバブル含有切削液を用いた機械構造用炭素鋼のドリル穴あけを行った。ここでは温度効果を評価するためドリル中心軸に K 型熱電対を挿入する手法により工具温度の計測を試みた。定常切削過程では切削液の侵入性が悪く温度抑制効果が見られないが、初期のドリル侵入過程ではナノバブル含有切削液の温度低減が確認された。

キーワード：ナノバブル，切削加工，ドリル，工具温度

In recent years, cutting of high value-added materials requires not only the roughness of the finished surface but also the influence on the internal physical properties of the finished surface, and the technology for controlling and suppressing the cutting temperature is important. In this study, in order to investigate the possibility of suppressing the cutting temperature of the cutting fluid containing nanobubbles, we drilled holes in carbon steel for machine structure using the cutting fluid containing nanobubbles. Here, in order to evaluate the temperature effect, we attempted to measure the tool temperature by inserting a K-type thermocouple into the central axis of the drill. In the steady cutting process, the infiltration of the cutting fluid was poor and the temperature suppression effect was not seen, but in the initial drill intrusion process, the temperature of the cutting fluid containing nanobubbles was confirmed to decrease.

KEY WORD: Nano bubbles, Cutting, Drill, tool temperature

1 はじめに

ナノバブル・マイクロバブルは、医学分野、農学分野への応用が普及している。工学分野においても生産性向上、品質向上等を目的として、多くの分野での利用が始まっており、その可能性に期待が高まっている。¹⁾²⁾³⁾除去加工分野についても、液量の低減、加工品質の向上、および工具寿命の増大を目的として、効果検証が活発に行われている。研削加工では、マイクロバブル

・ナノバブルともに加工性能を改善できる結果が報告されている。⁴⁾しかしながら、同じ除去加工に分類される切削加工では、効果に対する検証が十分ではなく、評価手法についても基礎検討がされているものの、民間企業において利用が促進するほどの検証結果は得られていない。評価方法について、マシニングなどの工具が回転する加工方法では、加工状態を計測する手法が限られているため、工具摩耗量などの結果系からのアプローチが多い。工具摩耗量の

評価では、切削液内にマイクロバブルを混入させ、工具摩耗状態の観察を行い、加工条件によっては工具摩耗量に若干の差があることが報告されている。⁵⁾加工中の工具状態を評価できる手法により、ナノバブル・マイクロバブルの活用効果について検証できる可能性がある。

そこで本研究では、切削液中に存在するナノバブルの持つ効果について解明することを目的として、加工中の工具先端付近の温度を計測する手法について評価検討を行った。

2. 実験

2. 1 ナノバブル

産総研の資料⁶⁾によると、マイクロバブルは、次のようにされている。

「空気を多気孔体から排出するとき生ずる気泡などは、気泡径が大きく、水中に供給しても極めて短時間に消滅するのに対し、マイクロバブルは、上昇速度が遅く広大な比表面積を持つため、水中で溶解しながら縮小して、最終的に消滅する(図1)。マイクロバブルは、電荷を帯びており、通常のマイクロバブルは表面電位として-30~-50mVに帯電している。また、表面張力の作用による自己加圧効果がある。この圧力の上昇は気泡径に半比例するため、気泡の縮小と共に内部圧力が上昇して、ナノレベルに至った段階では数十気圧以上に加圧されている。」
通常が目視することのできる大きな泡とは異なった性質を持つことが分かっている。

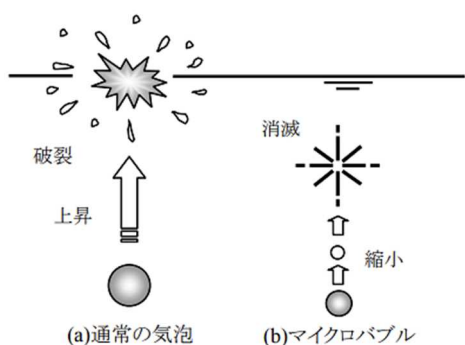


図1 通常の気泡とマイクロバブルの比較⁶⁾

2. 1 切削工具 (ドリル)

本実験にて温度測定するドリルの形状を図2に示す。概略寸法は直径10.0mm×全長93.0mmのハイス製一般加工用ストレートドリルである。先端はX形シニング加工である。

ドリル内の温度測定は、切削加工時の熱と振動を同時に計測できる測定機(株山本金属製作所 MULTI INTELLIGENCE[®]) (以下工具温度測定機)を用いた。熱電対の設置位置を図3に示す。ドリルは突き出し長さ55mmにてコレットチャックし、 $\Phi 0.5\text{mm}$ の熱電対を工具先端から2mmの距離に設置した。

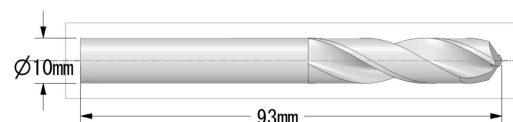


図2 Cutting tool

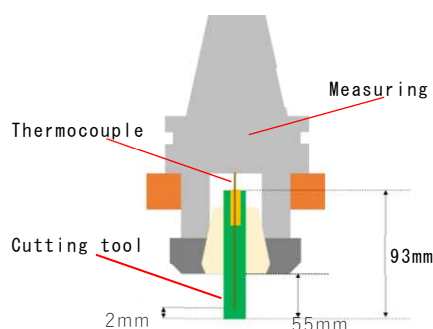


図3 Thermocouple installation

2. 2 実験装置

実験に使用した装置を表1に示す。

表1 Experimental device

機器	仕様
マシニングセンタ	オークマ ACE CENTER MB-46VA
ナノバブル発生器	橋本テクニカル工業 異次元くん 平均径 36.8nm

2. 3 実験ワーク (被削材)

実験で使用したワークは、S50C材を使用した。外観を図4に示す。ワークはバスタブ型に加工し、加工部分が常に切削液に浸っている状態とした。

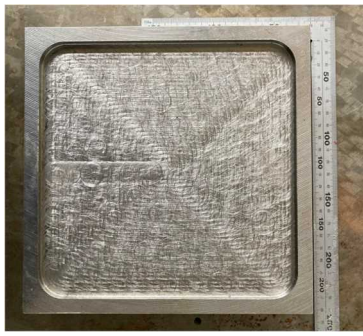


図 4 Work

2. 4 実験条件

実験条件を表 2 に示す。

表 2 Experimental conditions

回転数	1432 [rpm]
送り速度	430 [mm/min]
切削速度	45 [m/min]
深さ	5 [mm]
切削液供給	外部供給
穴あけ数	6 回

3. 結果および考察

3. 1 工具温度計測結果

実験結果を図 5 に示す。

実験結果は、合計 6 回の各加工時点での最高温度と変化点における平均値、最大値、最小値をまとめている。

最高温度は、各回数の加工時における最大温度である。変化点は、刃先がワークに侵入する時点の挙動の変化により、温度勾配に変化が生じる時点である（図 5 下図）。

最高温度を比較すると平均温度がおよそ 3℃バブル有りの加工が高かった。一方、変化点での温度を比較してみると 3℃バブル有りでの加工の方が低かった。ドリル侵入時においては、マイクロバブルの効果により、温度低減が図られていた。ドリル侵入時における変化点の前後の違いは、変化点前までは切削液が外部から効率よく供給されている。一方、変化点以降では工具刃先先端部分はワーク内に入り込んでしまうため、切削液の外部給油量が減少する。このことから、バブル有りの場合、工具先端がワーク内に入り込むまでの切削液による冷却が十分にされている間は、ナノバブルによる温度低減効果がある可能性がある。

工具内の温度計測箇所は、刃先先端から 2mm 程度離れているため、実際の刃先温度は 10℃以上差があると推定され⁷⁾、ナノバブルの冷却効果が生じている可能性がある。

本実験では、実験条件、ワークは一条件であったため、今後、難切削材などのより刃先の摩耗が激しい材料などで比較検討することが望まれる。

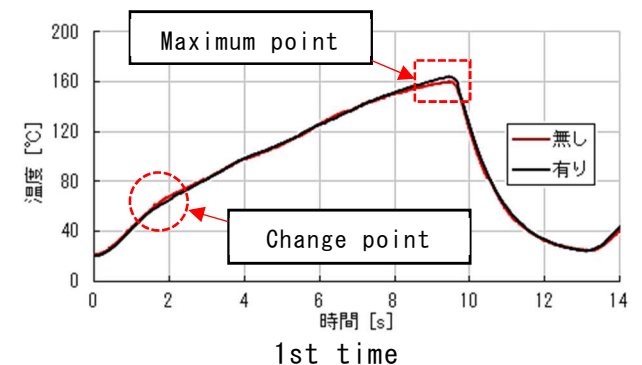
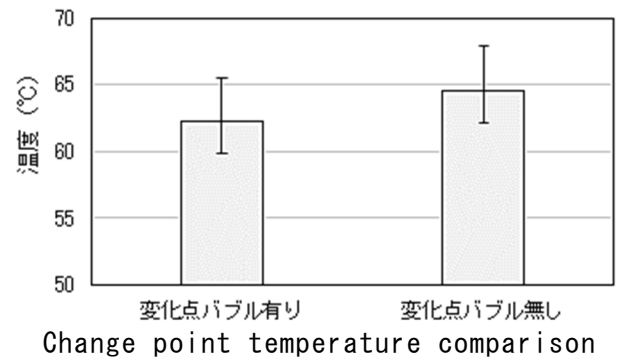
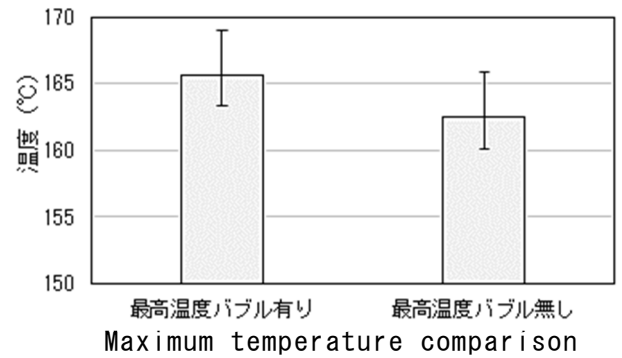


図 5 Experimental result

4. まとめ

本研究では、切削液中に存在するナノバブルの持つ効果について解明することを目的として、加工中の工具先端付近の温度を

計測する手法について評価検討を行った。
その結果、以下の知見が得られた。

- (1) ナノバブルの有無により、最大温度に差はみられない。
- (2) 一方、刃先先端がワークに侵入する変化点までは、ナノバブルの効果により温度上昇が緩和されている。

文献

- 1) 白井泰雪, 精密工学会誌, 83, 7, 623-626 (2017)
- 2) 鈴木清ほか, 2004 年度砥粒加工学会学術講演会講演論文集, 241
- 3) 高田亮ほか, 2019 年度精密工学会秋季大会学術講演会講演論文集, 38-39
- 4) 岩井学ほか, 2017 年精密工学会春季大会学術講演会講演論文集, 111-112
- 5) 岩井学ほか, 2018 年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集, 281-282
- 6) 産業技術総合研究所ホームページ, <http://www.aist.go.jp>
- 7) 荻野直彦ほか, 2022 年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集

半導体電子材料の接合強度評価手法の検証

林和・矢澤歩*

Verification of Evaluation Method for Bonding Strength of Semiconductor Electronic Materials
HAYASHI Yawara, YAZAWA Ayumu

はんだ付の接合強度は、専用機であるせん断試験機で実施することが一般的である。そのため、せん断試験機を導入しないと試験することができない。そこで、汎用機である引張試験機で強度試験の置き換えが可能か検証した。

キーワード：せん断試験、鉛フリーはんだ、銀ペースト

The bonding strength of soldering is generally carried out by a shear tester which is a dedicated machine. Therefore, the test cannot be performed without introducing a shear tester. Then, it was verified whether the replacement of the strength test was possible by the tensile tester which was a general-purpose machine.

Keywords : Shear test, Lead-free solder, Silver paste

1 まえがき

えが可能であるか検証することを目的とした。

はんだ付の接合強度試験は、専用機であるせん断試験機で実施することが一般的である。せん断試験機は、はんだ付の接合強度を測定するための専用機であり、広く普及している試験機とは言い難い。そのため、はんだ付の接合強度は、せん断試験機を導入しないと試験できないことから、強度試験できる環境が限られていた。

それに対し、金属材料の基礎的な強度を測定する場合は、引張試験機を用いた引張試験を実施することが多い。そのため、引張試験機は企業、大学、公設試験研究機関などに広く普及している非常に汎用的な装置である。この汎用的な引張試験機で、せん断試験機と同様の強度試験が可能であれば、専用機を所持していないユーザーもはんだ付の接合強度試験がしやすくなることが予想される。

そこで本研究では、専用機であるせん断試験機と汎用機である引張試験機とで強度試験（せん断試験）を実施し、試験方法の置き換

2 実験方法

2.1 接合材

本研究では2種類の接合材を選定した。

ひとつは、大半の電子基板のはんだ付で使用されている鉛フリーはんだ（Sn-3.0Ag-0.5Cu）を選択した。

もうひとつは、パワーデバイスなどの発熱環境でSnベースのはんだに置き換わる可能性のある銀ペーストを選定した。

2.2 せん断試験サンプルの作製

2.2.1 銅板の前処理

被接合材の銅板（5×2.5×50mm）を脱脂するために、アセトンに浸漬した状態で超音波洗浄機にて60秒洗浄した。脱脂後、10%硫酸水溶液に10秒間浸漬し、銅板表面の酸化膜の除去を行った。

2.2.2 接合前サンプルの作製

図1にサンプルの作製過程を示す。

2.2.1にて酸化膜の除去を行った銅板に、スパーサーとして耐熱テープを貼付けた後、ス

ペーサー間に接合材を塗布した。接合材を塗布した銅板の上に、2.2.1にて酸化膜除去を行った銅板を重ねて接合サンプル前とした。

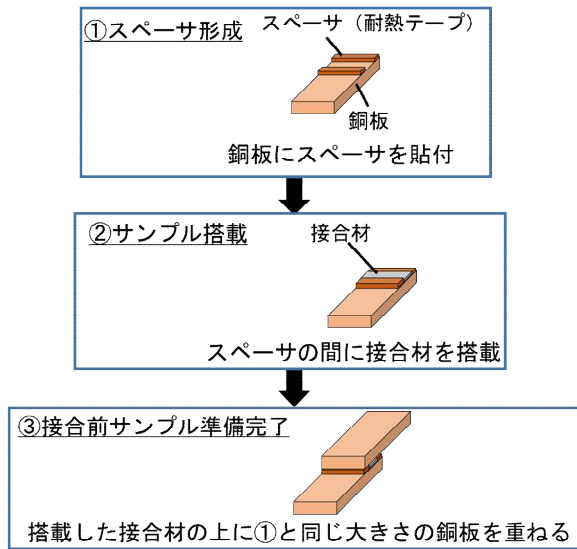


図1 サンプル作製過程

2.2.3 接合

接合は、引張試験機（インストロン製 5982）に冷凍機式高低温度恒温槽（三田製作所製 G00364-2）を接続して行った。

接合を行う前に、熱電対を使用して恒温槽内に置いた接合サンプルの温度プロファイル測定を行った。測定結果を図2および図3に示す。

2.2.2で作製したサンプルを、250℃にて加圧接合した。接合時間と圧力は、鉛フリーはんだは10 min、0.05 MPa、銀ペーストは30 min、1.00 MPaとした。

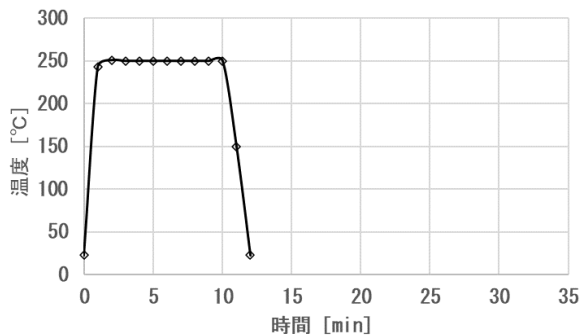


図2 温度プロファイル(鉛フリーはんだ)

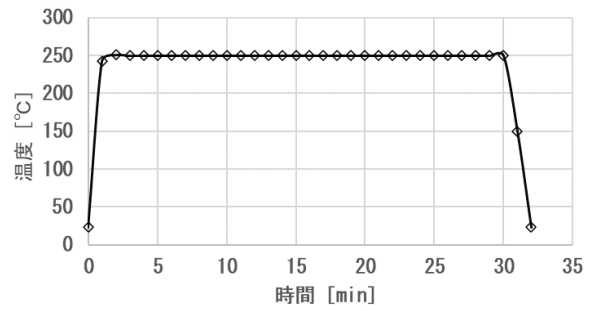


図3 温度プロファイル(銀ペースト)

2.3 せん断試験

図4にせん断試験機による試験と引張試験機による試験の模式図を示す。

2.2にて作製したサンプルに対して、せん断試験機による試験はボンディングテスタ（レスカ製 PTR1102）、引張試験機による試験は引張試験機（インストロン製 5966）を用いた。

試験速度は、両試験ともに5 mm/minとした。

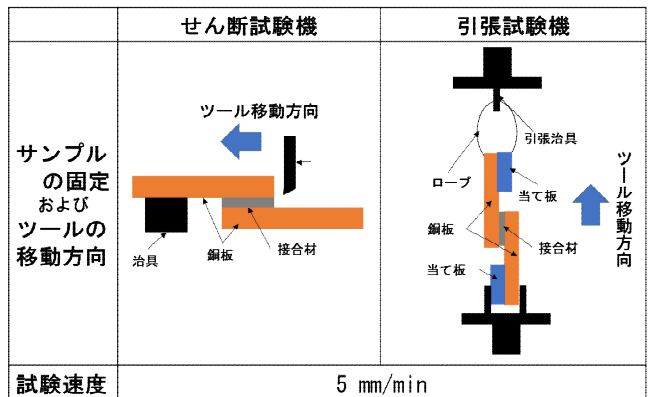


図4 せん断試験機による試験と引張試験機による試験の模式図

3 結果

図5にせん断試験機によるせん断試験結果、図6に引張試験機によるせん断試験結果を示す。鉛フリーはんだと比較して、銀ペーストの接合強度は著しく低い値となった。また、鉛フリーはんだは、せん断試験機による試験と引張試験機による試験でせん断力の平均値に差がみられた。そのため、せん断試験機と

引張試験機での試験結果については絶対値を直接比較することはできない。

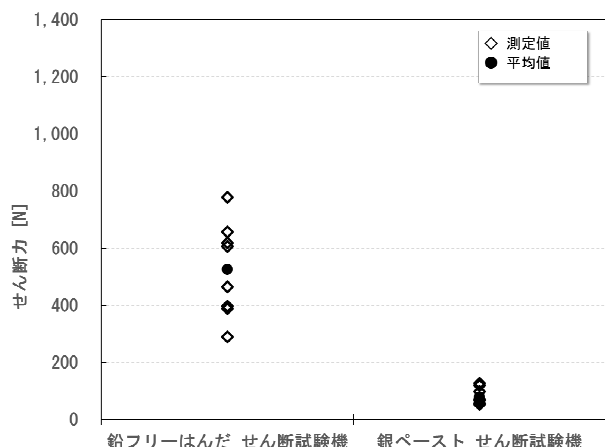


図5 せん断試験機によるせん断試験結果

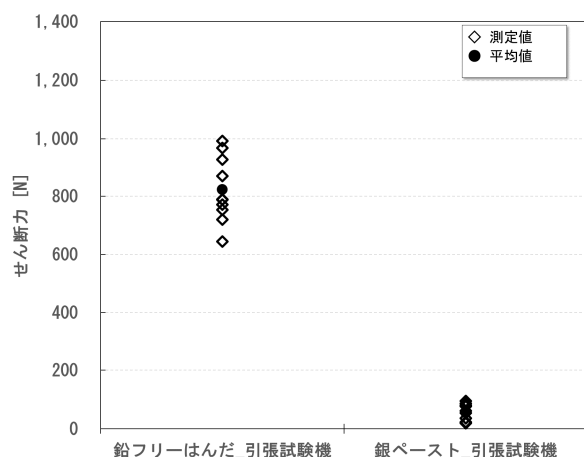


図6 引張試験機によるせん断試験結果

そこで、せん断試験機のせん断力と引張試験機のせん断力の相関図を作成した。図7に、せん断試験機のせん断力と引張試験機のせん断力の関係を示す。今後、他の接合材についても同様の試験を実施し、図7に加えていくことで、両試験の相関関係が明らかになり、試験方法の置き換えが可能になると考えられる。

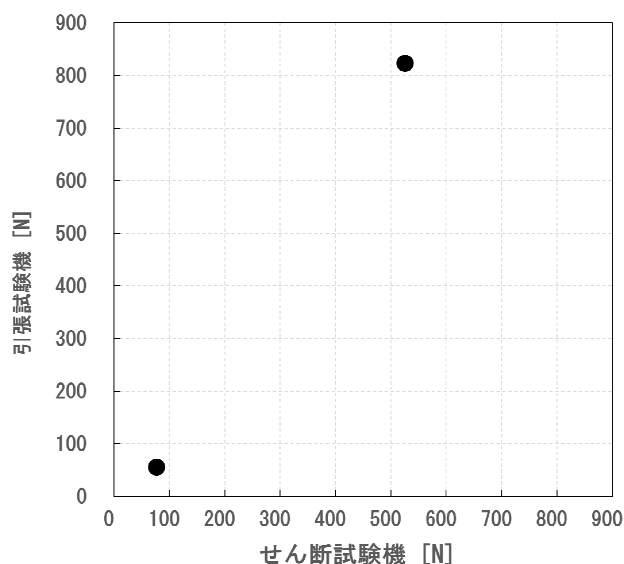


図7 せん断試験機のせん断力と引張試験機のせん断力との関係

4 まとめ

本研究では、鉛フリーはんだと銀ペーストを対象に、専用機であるせん断試験機と汎用機である引張試験機とで強度試験（せん断強度）を実施した。その結果、鉛フリーはんだは試験方法が異なるとせん断力に差が出るため、両試験の結果を直接比較することができないことがわかった。

今後、他の接合材についても同様の試験を実施し、両試験の相関関係を明らかにすることで、試験方法の置き換えが可能になると考えられる。

謝辞

本研究を進めるにあたり貴重な御助言を賜りました群馬大学大学院理工学府知能機械創製部門 荘司郁夫教授、小林竜也助教に感謝申し上げます。併せて、本研究で使用した銀ペーストをご提供いただきました JWES プロジェクト（高鉛含有はんだ代替接合材料規格化準備 WG）の皆様に感謝申し上げます。

繊維工業試験場の寸法変化率試験の寸法計測の自動化

河野誠司・細谷 肇*

A study on automation of dimension measurement for "Dimensional change ratio" at
Gunma Prefectural Textile Research Institute

KOHNO Seiji, HOSOYA Hajime

群馬県繊維工業試験場で行っている繊維製品の依頼試験のうち、織物等の伸び縮みを調べる「寸法変化率試験」は、織物の寸法を人の手によって定規で計測し、その結果を手書きで記録するなど手間と時間がかかっている。今回、これらの計測を三次元カメラ用いて自動計測し、その結果をエクセルに取り込むことで大幅な省力化を試みた。これによって測定時間の短縮や測定バラツキの低減による精度向上並びに記録の記載ミスの排除を目指した。

キーワード：寸法変化率試験、三次元カメラ

Of the textile product request tests conducted at the Gunma Prefectural Textile Research Institute, the "dimensional change rate test", which examines the expansion and contraction of woven fabrics, measures the dimensions of woven fabrics by hand with a ruler, and the results are handwritten. It takes time and effort to record. This time, by automatically measuring these measurements using a three-dimensional camera and importing the results into Excel, we aimed to save a lot of labor, improve accuracy by reducing measurement variations, and eliminate recording errors.

Keywords : dimensional change rate test, three-dimensional camera

1 はじめに

繊維製品の寸法変化率試験は、仕上げ工程や加工処理、家庭での洗濯などによって繊維製品の寸法がどの程度変化するか見るための試験であり、その製品の洗濯表示とも関連することから、重要な品質試験の一つとなっている。

しかし、現在行っている方法は、点間距離を人が定規で測定し、結果を手書きで記録用紙に記入。さらに、エクセルで変化率を算出し、その結果を元にワードにて試験結果通知書を作成するという、手間と時間が掛かる作業を行っている。また、人が測定することでの測定バラツキや手書きによる転記ミスや計算ミスも考えられ、この部分の省力化が求められてきた。

そこで、今回、3次元カメラのデータを元に点間距離の測定を行うとともに、エクセルへの記録や試験結果通知書への記載を自動で行うソフト作成することで、寸法変化率試験の大幅

な省力化を目指した。

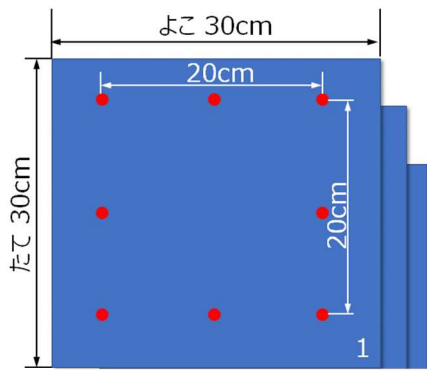
2 研究方法

2. 1 寸法変化率試験の概要

繊維製品の寸法変化率試験は、日本産業規格「JIS L 1096 織物及び編物の生地試験方法 8.39 寸法変化」に規定されており、30cm 四方の試験片に、たてとよこに 20cm 間隔で点(マーク)3 か所(計 8 か所)打ち、各々たて方向とよこ方向の点間距離を測定し、洗濯等の加工後、同様に点間距離を測定することで伸縮の程度を百分率(%)で表すこととしている。

また、通常、同じ試験片を 3 枚作成して同様の測定を行い、たて方向、よこ方向の距離の平均値を求め、それぞれの寸法変化率を算出する。

図 1 に寸法変化率試験片の例および寸法変化率の算出方法を示す。



$$\Delta L(\%) = \frac{L_2 - L_1}{L_1} \times 100$$

ΔL : 寸法変化率(%)
 L_1 : 洗濯前の長さ
 L_2 : 洗濯後の長さ

図1 寸法変化率試験の試験片および寸法変化率の算出方法

2.2 従来の寸法変化率試験測定方法

従来の寸法変化率試験では、図1に示す点間距離を人が定規を用いて測定するが、その測定数は1枚当たり、たて・よこそれぞれ3カ所で計6カ所、3枚の試験片で合計18カ所、さらに加工の前後で行うため全36カ所の測定を行う必要があり、手間と時間がかかる試験となっている。図2に寸法変化率の点間距離の測定の状況を示すとともに、図3に測定結果の手書き記録用紙の例を示す。

さらに、この記録用紙の数値をエクセルに入力して寸法変化率を算出し、求めた値を記録用紙に手書き記入している。最終的に客先に提出する試験結果通知書はワードを使用して作成しており、記録用紙に記載されている比率を試験条件や客先名と共に記載している。

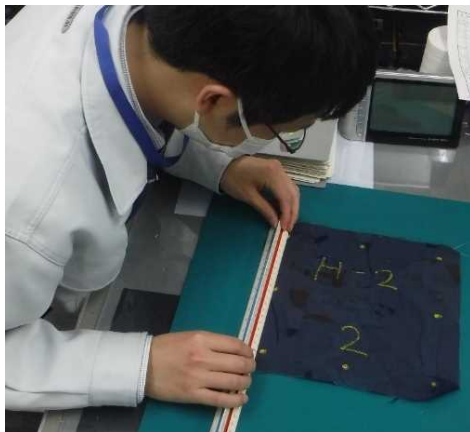


図2 人による点間距離の測定

寸法変化率試験データ

企業名		品番等		処理前			処理後			取縮率(%)	法
受付	年 月 日	①	②	③	①	②	③				
タテ方向	①	2.0	2.5	2.5	3.0	3.0	2.0	-2.6	%		
	②	3.0	4.0	3.5	-1.0	-1.5	-1.0				
	③	3.0	4.0	2.0	-1.5	-0.5	-3.0				
ヨコ方向	①	2.5	0.0	0.0	1.0	3.0	-1.5	-0.9	%		
	②	1.5	3.5	0.5	0.0	2.0	-1.0				
	③	4.0	5.0	2.5	2.0	3.0	1.0				
平均	算	$L_1 = 192.2$			$L_2 = 188.2$			$S = (L_2 - L_1) / L_1 \times 100$			
	記	192.2			188.2			-2.1			

図3 寸法変化率試験の手書き記録例

2.3 測定方法の自動化の考え方

この試験の測定を完全に自動化するためには、測定点の検出から自動化する必要がある。このために考えられる方法は、画像処理で測定点を自動検出する方法とAI (Deep Learning) により自動検出させる方法が考えられる。しかし、生地の手柄に点と同系統の色が使用されていることがあることや、AIの学習に十分となる生地の種類が準備できていないことから、今回の研究では、いずれの方法も現時点での適用が困難と考えられるため、試験片の点の中心位置を人がマウスで指定するという半自動化の方式を採用することとした。

3 研究結果

3.1 測定システムの構成

製作した測定システムの構成を図4に示す。撮影台の上に試験片を設置し、上から3次

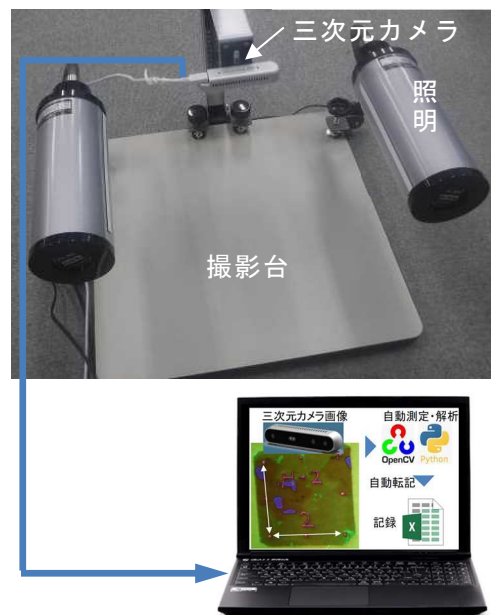


図4 測定システムの構成

元カメラで撮影する方式である。撮影に当たっては、上部左右から照明を当てて、撮影台には、光量不足を補えるようにLED照明が取り付けられている。三次元カメラは、Intel RealSense D415を使用した。この三次元カメラを使用することにより、カメラと試験片の間の距離が変わっても、キャリブレーションなしに試験片の点間距離を容易に求めることができる。

三次元カメラのデータは、画像処理演算器であるPC(ドスパラ ガレリア GCL1650TGF)に送られる。

PCには、今回Pythonを使用して作成したソフトを組み込んだ。Pythonの場合、以下の要件を満足することができる。

- ・三次元カメラを制御可能
- ・マウスによるGUIでの操作が容易
- ・画像処理用モジュールとの連携が容易
- ・エクセルの操作が可能

3. 2 ソフトウェアの構成

本研究では、点間の距離の測定、寸法変化率の計算、および、結果通知書の作成の自動化を行った。前述のように自動化にはPythonを使用しているが、プログラミングに不慣れな人でもその後の改変がなるべく行いやすくするようにエクセルで行える部分はエクセルにより自動化を行った。

Pythonでは、各点の中心位置をマウスで指定する機能、各点の中心間の距離を算出する機能、および、距離をエクセルに記録する機能を、エクセルでは点間距離から寸法変化率を算出機能と結果通知書を生成する機能を行わせている。

ソフトのメニュー画面を図5に示す。このメニュー画面をマウスで選択し、以下のように測定を進める。

- ① 試験情報が入ったエクセルを選択
- ② 撮影台に試験片を設置
- ③ 位置確認を選択しリアルタイム画像を見ながら試験片の位置合わせ実施
- ④ 今回の測定に対応するメニューを選択
- ⑤ 表示された画像上にて、間隔を測定する点の中心をマウスで指示(8か所/枚)

上の⑤の実行により以下が実行され結果通知書が生成される。

- ① ソフト中で点間距離を計算し、選択されたエクセルの対応する位置に書き込む
- ② エクセルで処理後と処理前のたて・よこの距離の平均値から寸法変化率を計算
- ③ エクセルの結果通知書のシートに転記



図5 メニュー画面

図6にエクセルの試験情報が入ったシートと結果通知書シートの例を示す。



図6 試験情報(左)と結果通知書(右)のエクセルシートの例

3. 3 測定システム製作での工夫点

3. 3. 1 カメラ精度向上

三次元カメラ(図7)で取得された画像には、試験片表面の反射や柄により、深度データの部分的な抜けや、時間的ばらつきが生ずることが多い。



図7 三次元カメラ

その対策として、空間的フィルタと時間的フィルタを入れた。特に試験片からの反射が強い場合には、深度データが広範囲に抜ける場合もあるが、その場合には、深度データが得られている右方向のデータで埋めることとした。時間的フィルタは、試験片を20回撮影し、その平均を用いる方法を取った。また、このカメラの深度方向の距離分解は通常1mmであるが、視差のシフトにより、

0.1mm の分解能に変更した。

3. 3. 2 マウス指示精度向上

今回の仕様では、点間の距離は人がマウスでクリックした位置を基準に測定する。そのため、点の中心位置を指定する精度が距離測定精度に直接影響する。その対策として、PC 画面上に表示される試験片の画像をマウス操作により、自由に拡大・縮小・移動できるようにした。

図 8 に通常表示と拡大表示の例を示すが、拡大表示の方が点の中心位置を見付け易い。

この拡大を行った場合と行わない場合の各場合に対し、点間の距離測定を、たて、よこ、それぞれ 6 回ずつ繰り返す測定を 3 種類の試験片にて実施した。その結果、拡大しない場合の距離測定値の最大値と最小値の差は 1.1 mm、拡大した場合には 0.7 mm であり、拡大表示による精度向上効果があることが確認できた。この測定ばらつきのは大きさは、従来の定規を用いての測定結果と同等以下である。

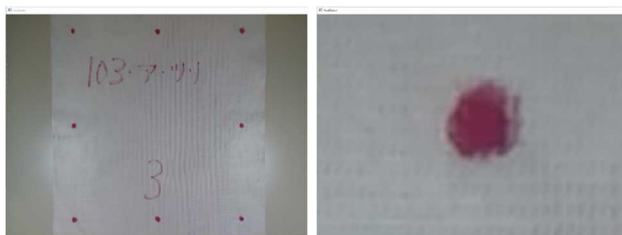


図 8 試験片画像の通常時(左)と拡大時(右)

3. 4 完全自動化へ向けての検討

上でも述べたように、今回の仕様では、測定する 8 か所の点の中心位置をマウスで指定するという人の作業が必要である。さらなる省力化には、8 か所の測定点の自動検出が必要である。自動検出の手法として考えられるのは、従来の画像処理による方法と Deep Learning を使用した AI による方法である。本年度の研究を実施してゆくなかで、ある程度の種類の試験片の 3 次元画像データが蓄積されてきたため、これらの方法の成立性についての確認を実施した。なお、AI には Semantic Segmentation のごく基本的構造のものを使用した。

表 1 は点の検出性能の評価を点の検出難易度が低いと思われるものと高いと思われるもので行った結果である。難易度は肉眼での検出し易さから決めた。

表 1 に示すように、低難易度の場合は画像処理、AI 共に点が検出できているが、高難易度の場合画像処理では背景と点の分離ができていない。しかし、AI では検出できている。

従って、今後さらに学習を進めた AI を用いることで、完全自動化も可能と考えられる。

表 1 画像処理と AI による点の検出性能

	低難易度	高難易度
試験片画像		
画像処理		
AI		

4 まとめ

繊維製品の寸法変化率試験の省力化を目的とした研究を実施し、以下の結果が得られた。

- (1) 3次元カメラを用いることで、点間距離を自動で測定可能なシステムを構築した。
- (2) 得られた結果を自動でエクセルに転送し、計算と結果通知書生成をすることで人為的ミスの排除と省力化を図れた。
- (3) 測定の完全自動化は、測定点の検出に AI を用いることで、達成できる可能性があることが分かった。

老朽化装置の安定的な運用のための部品再生技術の開発

小宅智史・小林興尚・中村哲也
小谷雄二*・加部重好**

Development of parts rebirth technology for stable operation of aging equipment
OYAKE Satoshi, KOBAYASHI Okihisa, NAKAMURA Tetsuya,
KOTANI Yuzi, KABE Shigeyoshi

老朽化装置部品の再生技術を確立することを目的として、部品再生に必要な形状測定から加工までの各工程の検証を行った。具体的には、三次元測定機での測定による形状データ取得、設計データ作成、ワイヤーカットによる加工の検証を行った。その結果、形状データ取得と加工の精度が明確になった。今回対象部品とした歯車については設計値に対しておよそ $\pm 0.01\text{mm}$ の精度で加工が出来ることを確認した。

キーワード：三次元測定機、歯車、精度

For the purpose of establishing the rebirth technology of aging equipment parts, we verified each process from shape measurement to processing necessary for rebirth the parts. Specifically, shape data acquisition by measurement with a Coordinate Measuring Machine, design data creation, and accuracy verification of the processing process by wire cutting were performed. As a result, the accuracy of shape data acquisition and processing was clarified. It was confirmed that the gears used as the target parts can be machined with an accuracy of approximately $\pm 0.01\text{ mm}$ with respect to the design value.

KEY WORD: Coordinate Measuring Machine, gear, precision

1 はじめに

伝統産業である桐生の絹織物では、長期に渡り同じ織機を使用している。繊維工業試験場でも長期間同じ織機を使用しているため、織機の老朽化が進んでいる。そして、織機の多くはメーカーからの部品供給が終了しており、部品が故障した際、代替部品が手に入らず稼働が停止するリスクが高まっている。そのため、現存部品と同形状の部品を製作し、代替部品とする部品再生の需要が高まっている。現在、群馬産業技術センターでは、測定による形状データ取得、形状データを元にした設計データの作成、加工機による試作品加工の技術を有

している。そこで、それらの技術を活用し織機の部品再生を行った。対象部品は歯車とした。各工程の手法を検証し、形状データ所得と試作品加工に関しては精度を検証したのでここに報告する。

2 実験方法

部品再生を行うためには、①測定による形状データ取得、②形状データを元にした設計データの作成、③加工機による試作品加工の3つの技術が必要である。①測定による形状データ取得では、予め理論値が分かっているマスターボールを測定し、測定した形状データと理論値を比較することで

精度検証を行った。②形状データを元にした設計データの作成では、平均的な歯を設計する手法を示す。③加工機による試作品製作では、ワイヤー放電加工機による加工品と設計値比較することで加工精度を検証した。以下に各工程での検証方法を記載する。

2. 1 形状データ取得工程の精度検証

本研究では、形状データを取得するために図1に示す当センター保有の三次元測定機(ミットヨ株、LEGEX9106)を用いた。



図1 三次元測定機

測定方法は、被測定物の表面をスタイラスが接触しながら一定の速度で測定するスキヤニング測定により行った。精度評価には、直径の理論値が分かっているマスターボール(ミットヨ株製)を用いた。三次元測定機は、スキヤニング時の速度やスタイラス径等により測定精度が変わることが分かっており、その精度を定量的に示した。図2に使用機器を示す。



(a)マスターボール (b)φ4mm, φ1.5mm

図2 使用機器

スタイラス径はφ1.5mmのスタイラスと、測定精度が一番良いとされるφ4.0mmのスタイラスを使用した。また、スキヤニング速度は、1.5、2.0、3.0、4.0mm/sの速度で測定を行い、速度の違いによる測定精度の影響を調査した。

2. 2 設計データの作成

設計データは、取得した形状データをCADソフトで処理することで作成した。CADデータの作成にはRhinoceros7(Robert McNeel & Associates社製)を使用した。歯先が定ピッチであることや左右の歯面形状が対称であることを考慮し、取得した歯車の複数歯面の形状データを平均することで歯形形状を作成した。図3に歯形形状作成の様子を示す。

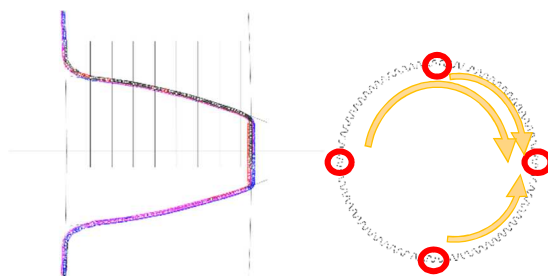


図3 歯形形状作成の様子

2. 3 加工工程の精度

ワイヤー放電加工は加工精度向上のため複数回の加工を実施することがある。そこで加工回数毎の精度を検証した。大局的な形状評価は、φ100mmの円筒穴の加工を行うことで検証し、局所的な形状評価については、歯車を加工、評価することで検証を行った。

2. 3. 1 ワイヤー放電加工

ワイヤー放電加工は、ワイヤー電極を用いて液中で加工物を溶解・除去しながら輪郭形状を加工するもので、材料硬度に関係なく高精度な加工ができる¹⁾。また、歯溝は曲率が大きく、径の細いエンドミルなどでは加工が難しい。そのため、本研究における歯車加工の方法としてワイヤー放電加工を選定した。

2. 3. 2 実験装置

本研究では、ファナック株製(型式:ROBOCUT α-C400iB)の放電加工機を使用した。使用したワイヤーは、材質が真鍮

で、 $\phi 0.25\text{mm}$ のものを使用した。図4に使用した放電加工機を示す。



図4 放電加工機

2. 3. 3 円筒穴の加工精度検証

円筒穴は $\phi 100\text{mm}$ とし、ワイヤー放電加工は1回~3回のカットを行ったものに対し、直径値及び真円度を評価した。

2. 3. 4 歯車の加工精度検証

加工した歯車を測定した形状データと設計値をCADソフトのImagewareを用いて形状評価を行い、歯車の加工精度の検証を行った。

3 結果及び考察

3. 1 形状データ取得工程の精度検証

三次元測定機のスキヤニング測定において、スタイラス径及びスキヤニング速度を変化させマスターボールの測定を行った。

① スタイラス径の影響について
スタイラス径を変えた場合の断面形状及び真円度の測定結果を図5及び表1に示す。

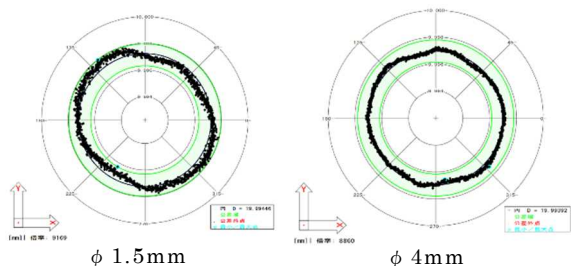


図5 各スタイラス径における断面形状

表1 各スタイラス径における真円度

スタイラス径[mm]	$\phi 1.5$	$\phi 4$
真円度[μm]	1.65	0.75

② スキヤニング測定速度の影響について

スキヤニング速度を変えた場合の断面形状及び真円度の測定結果を図6、7に示す。

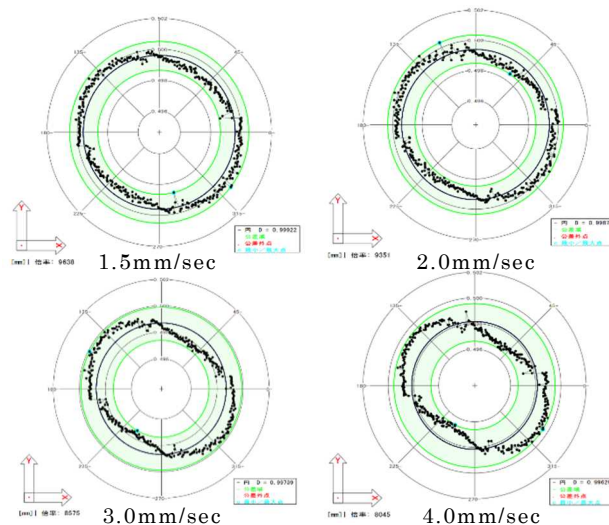


図6 各スキヤニング速度での断面形状

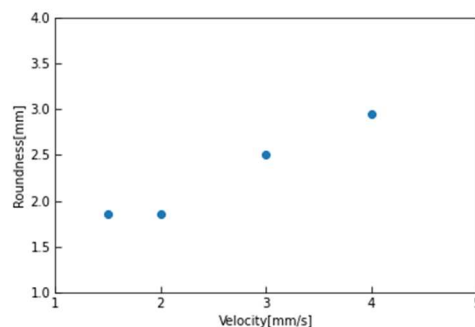


図7 各スキヤニング速度での真円度

スタイラス径を変化させた場合、本研究で使用した $\phi 4\text{mm}$ と $\phi 1.5\text{mm}$ のスタイラスでは、 $1\mu\text{m}$ 程度の測定精度の差が生じることが分かった。

また、スキヤニング速度を変化させた場合は、速度 2.0mm/s から速度の増加に伴って真円度が増加することが分かった。

3. 2 設計データの作成

複数歯面の点群データから平均的で左右の歯面が対称な歯形形状を作成することが出来た。作成した歯車のCADデータを図8に示す。



図8 作成した歯車のCADデータ

3.3 円筒穴形状の加工精度評価

ワイヤー放電加工によりφ100mmで厚さ20mmの円筒穴のサンプルを製作した(図9)。加工精度検証のために円筒穴に対し上段,中段,下段の高さを変えた3断面の測定を行った。真円度と直径の結果を図10、11に示す。



(a)First_cut(b)Second_Cut(c)Third_cut
図9 円筒穴形状の加工をしたサンプル

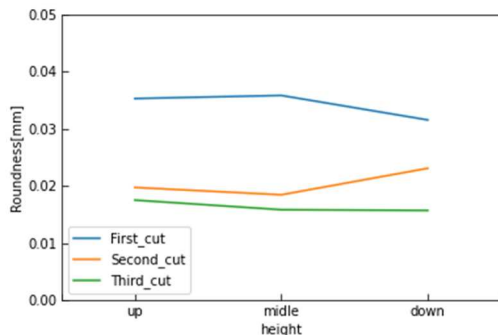


図10 真円度測定結果

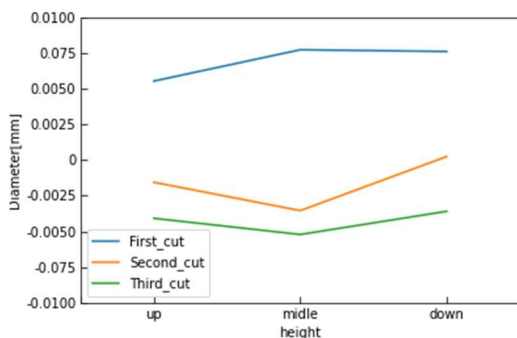


図11 直径値測定結果

結果から直径値で±0.01mm以内の誤差で加工できることが分かった。また、ワイヤー加工の回数を増やすことで真円度が良くなる程度を把握することが出来た。

3.4 歯車の加工精度評価

加工した歯車の形状と設計値について形状比較を行った。図12に形状データを取得した歯車及び加工した歯車、図13に形状比較した結果を示す。青色のオフセット

カーブが±0.01mmの目安である。



(a)測定対象の歯車 (b)加工した歯車

図12 歯車外観

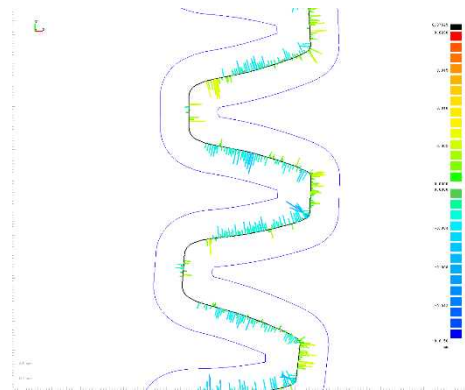


図13 設計値と歯車の形状比較

設計値との公差照合の結果、設計値に対しておよそ±0.01mm程の精度で加工が行えることを確認した。

4 まとめ

本研究では、部品再生技術を確立するため、各工程の精度検証を行った。結果は以下のとおりである。

- ・三次元測定機によるスキャニング測定ではスタイラス径、スキャニング速度を変えた場合の測定精度を定量的に示すことが出来た。
- ・φ1.5mmのスタイラスを用いてマスターボールを測定した場合、真円度が0.002mmの精度で測定できることが分かった。
- ・歯車の設計値は、測定した形状データにより作成し、複数の歯の平均的な形状を作成することが出来た。
- ・ワイヤー放電加工により円筒穴の加工を加実施した。ワイヤー放電加工を2回行った場合、真円度では0.02mm、直径値では±0.005mmで加工が出来た。

・歯車はワイヤー放電加工を2回行うことで設計値に対しおよそ $\pm 0.01\text{mm}$ で加工することが出来た。

本研究の効果としては、測定精度の検証を行い、三次元測定機のスキヤニング速度による精度の変化が定量的に分かったことで、依頼試験業務の効率化に役立てることができる。二次元形状を持つワークに対して、今回確立した測定から加工までの手法が適用できる。同様の相談や共同研究があれば対応が可能である。

三次元形状については、測定とその評価が今回の手法では行えない。そのため、非接触デジタイザやX線CTといった装置と三次元測定機を組み合わせた測定精度の検証が必要になるため今後は、それら装置の測定精度を検証し、部品再生の技術を確立させたい。

参考文献

1) ソディック放電加工教本編纂チーム.
放電加工入門. 第1版. 日刊工業新聞社. 2019年. 38p

その他研究

菩提配造りを活用した土田酒造の蔵付き清酒酵母の単離

渡部貴志・星野元希*・柳澤昌臣・櫛田麻希・土田祐士*

Isolation of house sake yeasts from Tsuchida Shuzo by utilization of *Bodai-moto*
WATANABE Takashi, HOSHINO Genki*,
YANAGISAWA Masaomi, Kushida Maki and TSUCHIDA Yuji*

菩提配造りとは、清酒造りの原型であり、蔵付き清酒酵母の優占化を促進する技術である。土田酒造で菩提配造りを行い、山廃配に差し配した清酒造りを行ったので、清酒酵母を単離し、醸造特性と簡易識別法で酵母の系統解析を行った。菩提配から蔵付き酵母を単離した際に用いたβアラニン培地において、大きなコロニーを形成したものはきょうかい7号系以外であり、小さなコロニーを形成したものはきょうかい7号系であった。α化米を用いた小仕込み試験では、特に香気成分の生成能に多様性があることが認められた。なお、蔵付き酵母は全て泡無し株であった。

キーワード：菩提配、蔵付き酵母、系統解析、泡無し株

Bodaimoto, a prototype method of sake brewing, accelerate house sake yeasts. Tsuchida shuzo brewed sake by adding bodai-moto into yamahai-moto. In the present study, we isolated 139 house sake yeasts from those mash, investigated those brewing ability and phylogenetic analysis by PCR. Large colonies on β-alanine plate isolated from *bodai-moto* identified as non kyokai No. 7 group by PCR. Small colonies identified as kyokai No. 7 group. By small scale brewing test revealed varieties of *ginjyo*-aroma productivity of yeasts. All tested yeasts were non-foaming strains.

Keywords: bodai-moto, house yeasts, phylogenetic analysis, non-foaming strain

1 はじめに

清酒は、蒸米と麴米、水、そして酵母によって醸し出される国酒である。現代の清酒のニーズは、高品質の独自性を合わせ持つ高級酒となってきている。このため、各酒造会社は、用いる酒造好適米の品種をこだわったり、多く磨いて精米歩合を低くしたり、低温長期熟成の吟醸造りを行ったりして特徴のある清酒造りに励んでいる。

土田酒造株式会社（土田酒造）は、蔵付き乳酸菌を利用した生配（きもと）系酒造りに力を入れており、消費者から高い評価を得ている。また、土田酒造では、現代では行われなくなった蔵付き酵母を利用し

た酵母無添加の酒造りを行うことにより、独自性がアピールできると考えた。取り組み始めた2015年では、蒸米と麴米のみで仕込んでみたが、いつまで経っても蔵付き酵母が湧いてこず、失敗に終わった。そこで文献調査をしたところ、菩提配（ぼだいもと）造り¹⁾という蔵付き酵母の育成を促す手法にたどり着いた。

菩提配は、水配とも呼ばれ、室町時代に奈良県奈良市の郊外にある菩提山正暦寺で創製された酒母であり、現代の速醸配や生配系酒母の原型と考えられている¹⁾。明治になると清酒酵母が単離されたり、蔵付き乳酸菌が生産する乳酸によるpHの酸性化が、酒母造りでの雑菌汚染防止を担っていることが知られるようになった。この結果、製造操作が容易かつ安全、しかも短期間で

バイオ・微生物係

* 土田酒造株式会社

製造できる乳酸を添加する速醸酏が考案され、培養した優良清酒酵母を添加するようになっていき、菩提酏造りは大正には姿を消したといわれてきた¹⁾。一方で、昭和になると、微生物相の変遷を調べる研究により、菩提酏の技術が再検討されている²⁾。

菩提酏は、生米と麴米、水で「そやし」をつくる工程があり、約一週間後に乳酸菌や酵母が湧いてくるので絞った「そやし水」を酵母供給源として用いる¹⁾。このため、そやし水には目的の酵母以外の様々な雑菌も含まれていることから、風味が整わなかったり、腐造となったりする危険性が伴う。そこで土田酒造では、酵母添加前の山麴酏を同時並行で造っておき、菩提酏を酵母の供給源として山麴酏に加える（差し酏する）ことにした。

一方、群馬産業技術センターでは、平成29年度に酵母の簡易識別法について検討を行い、福田らの方法³⁾で容易に優良清酒酵母の識別ができることを確認している⁴⁾。そこで本研究では、菩提酏を活用した土田酒造の蔵付き酵母を単離し、その醸造特性を調査し、遺伝子配列の増幅の型による簡易識別を行ったので報告する。

2 実験材料と方法

2.1 供試酵母

群馬KAZE酵母1号、2号、日本醸造協会が頒布する清酒酵母きょうかい701号（K701）、K901、K1801を比較対照に用いた。また、土田酒造株式会社の菩提酏造りのもろみの中から、日本醸造協会のβア

ラニン培地を利用して分離した139株の蔵付き酵母を供試酵母とした。なお、βアラニン培地は、パントテン酸要求性でK7系酵母かどうかを簡易的に識別できるため、コロニーの大きさにより、各蔵付き酵母を大中小と明記した。

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（タカラバイオ製）を用いてゲノムDNAを抽出した。

2.3 PCR条件

福田らの報告³⁾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、T100TM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。

2.5 泡無し株の判定試験

濃縮麴エキス5 mLを15 mLディスポチューブに加え、酵母を一白金耳接種し、30℃で24時間静置培養を行った。得られ

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'-GGCGTACTTACATGTGATAGGTTTCATTAG-3'
YLRWdelta20-F	5'-TCACGTCAGAATAGTTTTTGTGCATCTATG-3'
YLRWdelta20-R	5'-AAATGGATGGATAATTTGATAATTGCTGGG-3'
YPLWdelta7-F	5'-GTATGGTCAGAAAATGATCGTGGTGGTTTCA-3'
YPLWdelta7-R	5'-ATCCTTGCGTTTCAGCTTCCACTAATTTAG-3'

た培養液を遠心分離（2400×g, 1 min）し、蒸留水で再懸濁した。懸濁液1 mLを採取し、ドラフトチャンバー内でベンゼンを1 mL加えて封をし、voltexで約10秒間激しく攪拌した。静置後に菌体が水相に戻るものを泡無し株、ベンゼン相に移行するものを泡有り株として判定した。

2. 6 α化米を用いた小仕込み試験

比較対照5株と菩提酛酵母139株の合計144株について、α化米と乾燥麴を用い、表2に示す条件で総米20 gの小仕込み試験を行った（24株ずつ6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°Cで2日間静置培養を行った。この培養液を滅菌乳酸水（0.5 %（v/v））2.5 mLに置換し、酒母の代わりに用いた。なお、汲水は水道水を用い、仕込み温度15°C、18日後に上槽を遠心分離（4000×g, 15 min）で行った。

2. 7 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。

3 結果と考察

3. 1 第1回目の菩提酛酵母の評価

菩提酛造りを初めて行った2016年11月のもろみから単離した酵母19株を用い、一連の評価試験を行った。その結果、全ての菩提酛酵母は泡無し株であることが分かった。また、小仕込み試験の結果から、用いた全ての菩提酛酵母は、カプロン酸エチルの生産量が少なく、酢酸イソアミルを生産するタイプであった（表2）。なお、比較対照であるKAZE1、KAZE2、K1801はカプロン酸エチル高生産性株であるが、本小仕込み試験では2.2～3.6 ppmの生産量であった。一方、遺伝子配列の増幅パターンをみると、βアラニン培地で大コロニー

表2-1 第1回目の菩提酛酵母の評価のまとめ

	K701	K901	KAZE1	KAZE2	K1801	1-1大	1-2大	1-3大
重量減少量 (g)	8.60	8.58	8.56	8.32	8.32	8.60	8.55	8.82
日本酒度 (-)	6.6	7.5	6.3	3.7	5.0	6.6	5.0	7.9
酸度 (mL)	2.9	3.3	2.8	2.7	2.6	3.2	2.9	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.1	2.1	2.2	2.5	2.4	2.2	2.2	2.3
EtOH (%(v/v))	20.0	20.0	20.0	19.6	20.0	20.9	20.1	19.3
Glucose (%)	0.8	0.8	1.1	1.3	1.1	1.2	1.1	0.9
Maltose (%)	0.3	0.1	0.1	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.5	259.9	227.5	241.9	268.2	251.9	226.4	237.4
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	4.4	2.9	1.8	2.8	3.9	2.2	2.6
カプロン酸エチル (ppm)	0.8	0.7	2.3	2.2	3.6	1.0	0.8	1.0
酢酸エチル (ppm)	70.1	58.4	51.3	39.8	60.0	86.6	58.8	57.5
イソブチルアルコール (ppm)	113.4	96.8	133.8	117.6	116.2	116.6	104.6	104.1
E/A (-)	1.4	1.7	1.3	0.8	1.1	1.5	1.0	1.1
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25					○	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21								
YLRWdelta20	○				○			
YPLWdelta7	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統						K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 2-2 第1回目の菩提酩酵母の評価のまとめ (続き)

	1-4大	1-5大	1-6大	1-7大	1-8大	1-9大	1-10大	1-11小
重量減少量 (g)	8.97	9.35	8.99	8.69	8.47	9.27	8.85	9.11
日本酒度 (-)	6.9	6.2	8.2	6.9	4.6	5.9	6.0	5.5
酸度 (mL)	3.3	3.3	3.5	3.5	3.4	3.3	3.5	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.6	2.5	2.0	2.5	2.2	2.4	2.3
EtOH (%(v/v))	19.9	19.4	19.4	20.1	20.0	19.0	20.0	19.4
Glucose (%)	1.0	1.1	1.1	1.1	1.2	0.9	1.3	1.3
Maltose (%)	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.3	231.1	244.1	256.0	221.4	228.2	233.2	224.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.0	1.8	2.3	4.4	2.0	1.9	2.3	1.8
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	0.9	0.9	1.1	0.7	1.0	1.0	1.0
酢酸エチル (ppm)	47.5	44.5	62.8	86.6	48.6	43.0	61.7	42.3
イソブチルアルコール (ppm)	108.7	103.7	110.2	112.1	114.4	101.6	106.8	98.5
E/A (-)	0.8	0.8	0.9	1.7	0.9	0.8	1.0	0.8
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 2-3 第1回目の菩提酩酵母の評価のまとめ (続き)

	1-12小	1-13小	1-14小	1-15小	1-16小	1-17小	1-18小	1-19小
重量減少量 (g)	9.34	8.60	8.66	8.50	8.41	8.42	8.74	8.51
日本酒度 (-)	6.3	6.6	5.5	5.6	4.9	5.2	6.8	3.4
酸度 (mL)	3.4	3.3	3.8	3.3	3.6	3.1	3.4	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.2	2.3	2.4	2.3	2.4	2.3	2.5
EtOH (%(v/v))	19.1	20.0	19.8	20.2	20.3	20.3	20.5	20.6
Glucose (%)	0.9	1.2	1.2	1.2	1.3	1.5	1.3	1.8
Maltose (%)	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2	0.3	0.1	0.5
イソアミルアルコール (ppm)	225.4	246.0	231.1	237.1	243.2	250.0	255.6	248.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.1	3.2	2.3	3.2	3.8	4.0	4.4	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	0.9	1.1	1.2	1.2	1.4	1.2
酢酸エチル (ppm)	39.3	69.3	66.0	77.5	90.4	90.1	92.4	101.8
イソブチルアルコール (ppm)	97.8	110.9	106.3	113.1	113.1	117.7	115.0	119.0
E/A (-)	1.0	1.3	1.0	1.4	1.6	1.6	1.7	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

であったものはK9系であり、小コロニーになったものはK7系であった。なお、比較対照のKAZE1、KAZE2はK901を親株としており、同じ遺伝子配列の増幅パターンであることが確認できた。

秋山らの報告²⁾では、そやし工程から酵母を単離しており、清酒酵母は7号系であるが、産膜酵母や他の酵母を殺すキラー活性のある酵母が出てきたと述べている。しかしながら、今回の菩提酏酵母は全て発酵力の高い優良清酒酵母に分類されるものであり、土田酒造の蔵付き酵母は、清酒醸造過程で使われているきょうかい系酵母になっていると推測される。

3. 2 第2回目の菩提酏酵母の評価

先の第1回目の菩提酏造りによって、土田酒造の蔵付き酵母が分離できることを確認できたため、同じ酒造年度の2016年12月に第2回目の菩提酏造りを行い、酵母の分離を試みた。酵母の分離に用いていたβアラニン培地では、大コロニーと小コロニーの間の中コロニーも見られたので、それぞれ24株ずつ単離した。

今回単離した菩提酏酵母についても、全て泡無し株であった。大コロニーの24株は、いずれもK9系であることが確認されたが、香気成分や酸度、アミノ酸度などにバラツキがあり、多様性を示した(表3)。つづいて中コロニーの24株は、いずれもK9系と類推されるが、*YGRWdelta21*で指定サイズ以外の増幅が確認され、大コロニーとは異なる系統のものであると推測された(表4)。また、エタノール生産量(EtOH)も大コロニーのものより低いものが多く、カプロン酸エチルの量は高かった。土田酒造で使用した酵母の履歴から、KAZE4の系統の酵母であると推測される。一方、小コロニーの24株は、K7系と類推される*YLRWdelta20*が増幅されていた(表5)。しかしながら、*YGRWdelta21*に指定サイズ以外の増幅が確認され、第1回目のK7系とは異なる系統のもので推測された。また、香気成分の変動が大きく、2小-14は特に酢酸イソアミルの生産量が9.1 ppmと他の株に比べて2倍以上高く、株間の多様性が認められた。

表3-1 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ

	2大-1	2大-2	2大-3	2大-4	2大-5	2大-6	2大-7	2大-8
重量減少量 (g)	8.45	8.35	8.41	8.36	8.35	8.67	8.29	8.26
日本酒度 (-)	5.9	5.6	4.7	3.9	3.3	5.7	4.7	5.9
酸度 (mL)	3.2	3.3	3.2	3.1	3.3	3.4	3.2	3.5
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.4	2.5	2.7	2.7	2.3	2.5	2.3
EtOH (%(v/v))	20.6	21.0	20.6	21.1	20.8	20.7	20.6	21.0
Glucose (%)	1.1	1.3	1.4	1.7	1.8	1.3	1.4	1.2
Maltose (%)	0.2	0.1	0.3	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	237.7	243.2	240.3	240.9	246.0	244.5	244.6	253.7
酢酸イソアミル (ppm)	3.0	3.8	2.8	3.2	3.5	3.3	3.7	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	1.1	0.9	1.1	1.3	1.3	1.2
酢酸エチル (ppm)	67.1	92.5	62.3	79.7	81.1	78.7	73.5	92.2
イソブチルアルコール (ppm)	112.3	120.8	132.7	132.9	135.9	118.1	113.2	124.0
E/A (-)	1.3	1.5	1.2	1.3	1.4	1.3	1.5	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>								
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 3-2 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	2大-9	2大-10	2大-11	2大-12	2大-13	2大-14	2大-15	2大-16
重量減少量 (g)	8.58	8.49	8.54	8.50	8.66	8.68	8.54	8.69
日本酒度 (-)	4.1	5.7	3.3	3.1	5.6	6.6	4.0	4.7
酸度 (mL)	3.5	3.3	3.1	3.3	3.5	3.2	3.3	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.7	2.9	2.5	2.5	2.4	2.8	2.5
EtOH (%(v/v))	21.0	21.0	19.6	20.3	19.8	19.6	19.3	19.4
Glucose (%)	1.7	1.6	1.9	2.1	1.6	1.7	1.8	1.7
Maltose (%)	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	248.8	244.9	242.8	255.4	234.6	253.9	229.8	245.9
酢酸イソアミル (ppm)	3.1	3.2	3.4	4.8	3.2	4.5	2.6	3.3
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.2	1.1	1.3	1.2	1.5	1.1	1.1
酢酸エチル (ppm)	83.9	79.5	78.2	107.2	75.6	96.8	69.7	76.8
イソブチルアルコール (ppm)	122.7	119.7	138.2	132.1	108.4	121.4	128.5	138.5
E/A (-)	1.3	1.3	1.4	1.9	1.4	1.8	1.1	1.3
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25	△	△	△	△	△	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21								
YLRWdelta20								
YPLWdelta7	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 3-3 第2回目の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	2大-17	2大-18	2大-19	2大-20	2大-21	2大-22	2大-23	2大-24
重量減少量 (g)	8.73	8.30	8.41	8.31	8.90	8.66	8.77	8.49
日本酒度 (-)	7.1	5.5	6.0	2.6	5.9	7.1	6.6	3.0
酸度 (mL)	3.3	3.3	3.3	3.3	3.5	3.4	3.5	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.6	2.4	2.7	2.4	2.4	2.3	2.7
EtOH (%(v/v))	19.3	20.1	19.6	19.4	19.2	18.9	19.3	19.2
Glucose (%)	1.4	2.0	1.6	2.0	1.9	1.4	1.5	2.2
Maltose (%)	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	244.3	239.9	230.0	241.5	238.3	231.5	242.4	253.7
酢酸イソアミル (ppm)	4.3	4.6	3.5	3.9	2.5	3.8	3.5	5.5
カプロン酸エチル (ppm)	1.3	1.4	1.3	1.2	1.3	1.4	1.5	1.4
酢酸エチル (ppm)	93.3	101.7	89.1	96.1	57.7	72.7	80.2	113.3
イソブチルアルコール (ppm)	114.9	118.4	106.0	137.2	108.6	138.6	113.8	141.3
E/A (-)	1.8	1.9	1.5	1.6	1.1	1.6	1.5	2.2
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25	△	△	△	△	△	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21								
YLRWdelta20								
YPLWdelta7	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-1 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ

	2中-1	2中-2	2中-3	2中-4	2中-5	2中-6	2中-7	2中-8
重量減少量 (g)	8.33	8.64	8.59	8.53	8.42	8.05	8.80	8.48
日本酒度 (-)	7.2	7.8	5.5	5.0	4.9	5.2	7.1	5.6
酸度 (mL)	2.8	2.8	3.0	3.1	2.8	3.1	3.0	3.0
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.5	2.7	2.5	2.6	2.7	2.7	2.6
EtOH (%(v/v))	19.6	19.9	19.8	19.7	19.5	20.1	19.7	19.6
Glucose (%)	0.9	0.9	1.1	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1
Maltose (%)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	237.6	255.6	251.7	255.6	259.5	259.2	239.8	249.3
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	3.0	3.7	2.5	3.1	4.3	2.6	2.5
カプロン酸エチル (ppm)	1.6	2.1	1.8	1.6	1.7	2.3	1.6	1.9
酢酸エチル (ppm)	57.5	64.1	72.5	55.5	55.8	84.3	50.0	56.5
イソブチルアルコール (ppm)	146.5	125.8	144.1	147.5	158.6	155.5	133.9	147.7
E/A (-)	1.5	1.2	1.5	1.0	1.2	1.7	1.1	1.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	△	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>			△		△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-2 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ（続き）

	2中-9	2中-10	2中-11	2中-12	2中-13	2中-14	2中-15	2中-16
重量減少量 (g)	9.37	9.34	8.52	8.91	8.77	9.53	8.53	8.59
日本酒度 (-)	7.6	6.2	3.0	7.1	6.8	5.6	5.9	5.5
酸度 (mL)	3.1	3.3	3.1	2.9	3.0	3.2	3.3	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.6	2.8	2.5	2.6	2.5	2.5	2.7
EtOH (%(v/v))	19.0	18.8	19.9	19.7	19.9	18.9	19.5	19.4
Glucose (%)	0.9	1.0	1.5	1.1	1.2	1.1	1.3	1.3
Maltose (%)	0.3	0.3	0.5	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	239.5	236.9	231.6	248.4	250.5	234.5	254.7	231.1
酢酸イソアミル (ppm)	1.7	1.6	2.7	2.7	2.2	1.5	3.1	2.7
カプロン酸エチル (ppm)	1.4	1.5	1.6	1.8	1.7	1.4	1.9	1.7
酢酸エチル (ppm)	39.5	35.6	67.0	71.9	49.7	34.6	64.3	55.6
イソブチルアルコール (ppm)	139.9	139.9	146.1	140.5	143.4	136.1	147.2	135.5
E/A (-)	0.7	0.7	1.2	1.1	0.9	0.7	1.2	1.2
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△		△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 4-3 第2回目の菩提酏酵母中コロニーの評価のまとめ (続き)

	2中-17	2中-18	2中-19	2中-20	2中-21	2中-22	2中-23	2中-24
重量減少量 (g)	8.67	8.50	8.17	8.12	8.15	8.83	8.79	8.21
日本酒度 (-)	6.2	6.0	4.4	5.7	4.4	5.2	3.4	5.5
酸度 (mL)	3.3	3.1	2.9	3.0	2.8	3.1	2.9	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.6	2.5	2.5	2.7	2.8	2.7	2.6	2.6
EtOH (%(v/v))	19.6	19.6	19.9	19.7	19.4	19.2	19.4	18.9
Glucose (%)	1.3	1.4	1.5	1.4	1.6	1.5	1.7	1.4
Maltose (%)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3
イソアミルアルコール (ppm)	242.6	251.3	259.1	257.9	248.7	244.0	250.2	237.0
酢酸イソアミル (ppm)	3.3	3.8	4.8	5.5	4.5	2.2	3.3	2.3
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	2.1	2.2	2.6	2.4	1.7	1.9	1.8
酢酸エチル (ppm)	73.4	74.6	96.1	101.5	88.1	46.4	69.3	47.1
イソブチルアルコール (ppm)	146.9	147.0	161.9	149.6	149.3	150.0	155.3	139.3
E/A (-)	1.4	1.5	1.8	2.1	1.8	0.9	1.3	1.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△		△	△
<i>YLRWdelta20</i>								
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-1 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ

	2小-1	2小-2	2小-3	2小-4	2小-5	2小-6	2小-7	2小-8
重量減少量 (g)	7.84	8.48	8.44	8.46	8.18	8.35	8.30	8.03
日本酒度 (-)	2.4	6.6	6.9	5.3	5.3	6.0	4.4	4.9
酸度 (mL)	3.8	3.8	4.2	3.9	3.6	3.9	4.2	3.7
アミノ酸度 (mL)	2.4	2.4	2.3	2.4	2.5	2.3	2.5	2.5
EtOH (%(v/v))	19.3	19.6	19.3	19.1	19.8	19.5	19.5	19.7
Glucose (%)	1.0	0.9	0.8	0.9	1.1	1.0	1.1	1.2
Maltose (%)	0.5	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	223.2	244.8	244.3	236.2	245.8	232.3	243.8	259.1
酢酸イソアミル (ppm)	3.4	3.0	3.6	2.2	3.3	3.4	3.4	4.1
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	1.0	1.1	2.7	1.1	1.1	1.1	1.1
酢酸エチル (ppm)	82.5	56.5	70.6	52.8	68.9	80.3	79.2	79.2
イソブチルアルコール (ppm)	117.8	125.5	128.9	112.9	123.7	119.5	130.5	140.0
E/A (-)	1.5	1.2	1.5	0.9	1.4	1.5	1.4	1.6
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-2 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	2小-9	2小-10	2小-11	2小-12	2小-13	2小-14	2小-15	2小-16
重量減少量 (g)	8.38	8.23	8.22	8.12	7.89	8.20	8.59	8.17
日本酒度 (-)	4.4	5.2	5.7	3.1	3.3	4.7	5.2	4.4
酸度 (mL)	4.4	3.9	3.7	4.0	4.0	3.4	4.2	3.8
アミノ酸度 (mL)	2.5	2.4	2.5	2.5	2.5	2.2	2.4	2.6
EtOH (%(v/v))	19.5	19.8	20.0	19.5	19.7	19.6	19.3	20.2
Glucose (%)	1.1	1.3	1.3	1.4	1.4	1.2	1.2	1.5
Maltose (%)	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	228.4	239.7	241.2	237.1	255.4	249.8	271.9	237.4
酢酸イソアミル (ppm)	2.4	3.5	4.6	2.7	4.4	9.1	2.5	4.1
カプロン酸エチル (ppm)	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.2	1.1
酢酸エチル (ppm)	68.0	81.7	80.4	78.5	112.7	114.3	65.1	93.2
イソブチルアルコール (ppm)	119.4	120.4	118.1	125.3	140.5	225.8	141.1	119.2
E/A (-)	1.1	1.5	1.9	1.2	1.7	3.6	0.9	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△		△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 5-3 第2回目の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	2小-17	2小-18	2小-19	2小-20	2小-21	2小-22	2小-23	2小-24
重量減少量 (g)	8.59	8.19	7.96	8.15	8.23	8.10	8.09	8.08
日本酒度 (-)	6.0	5.7	3.4	2.7	4.0	4.3	4.3	4.4
酸度 (mL)	4.1	3.9	4.0	4.4	4.0	3.8	3.2	3.8
アミノ酸度 (mL)	2.3	2.3	2.5	2.6	2.5	2.7	2.7	2.7
EtOH (%(v/v))	19.1	20.3	19.6	19.5	19.8	20.0	19.3	19.7
Glucose (%)	1.2	1.4	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5	1.6
Maltose (%)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
イソアミルアルコール (ppm)	225.6	244.3	234.4	206.5	233.9	233.7	241.9	243.5
酢酸イソアミル (ppm)	2.1	4.9	3.9	2.4	3.5	4.2	4.1	4.2
カプロン酸エチル (ppm)	1.1	1.3	1.3	1.1	1.3	1.4	1.2	1.5
酢酸エチル (ppm)	51.5	117.2	99.2	73.8	85.8	89.3	87.2	85.2
イソブチルアルコール (ppm)	114.9	125.3	119.3	108.5	119.9	116.5	149.8	123.1
E/A (-)	0.9	2.0	1.7	1.1	1.5	1.8	1.7	1.7
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○		○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

3. 3 酒造期外の菩提酏酵母の評価

先に挙げた第1回、第2回の菩提酏酵母の系統は、日本醸造協会が頒布している優良清酒酵母であった。また、菩提酏造りを行った時期も酒造期であったことから、土田酒造で用いている酵母の影響が大きいことが考えられた。そこで酒造期前の2017年の8月に、普段は酒母を造っていない部屋で菩提酏造りを行うことで、これまでとは違った酵母が湧いてきて、酒質を変えることができると考え、実施した。しかしながら、予想に反して、日本醸造協会のTTC培地での酵母の染色では、湧いてきた酵母はほぼ全て赤色であり、優良清酒酵母が生えてきた。また、βアラニン培地では、大コロニーと小コロニーが生えてきたため、酵母を単離して評価を行うことにした。

まず、単離した菩提酏酵母の泡無し判定試験では、全ての株が泡無し株であり、これまでに酒母造りを行っていない部屋でも優良清酒酵母が蔵付きとなっていることが分かった。一方、大コロニーの24株は、全てYPLWdelta7に指定サイズ以外の増幅

が確認され、K9系統ではないと推測される結果となった(表6)。これらのことから、第1回、第2回とは違う酵母が湧いてきていることが認められた。なお、土田酒造が使用している酵母の履歴から推測すると、大コロニーはK6系統であるのかも知れない。つづいて小コロニーの24株を調べたところ、YLRWdelta20が増幅されたため、K7系と類推された(表7)。なお、今回単離した菩提酏酵母は、エステル系の香気成分(酢酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル)が高めであるが、小仕込み試験ではロット間の差が大きいため、株を選抜して菩提酏酵母間での比較を行わないと、正確なことが分からない。

今回菩提酏を行った場所は、酒造期ではないことと酒母造りを行っていない部屋であることから、前年度以前の酒造で使われた優良清酒酵母が何らかの形で浮遊し、蔵付きとなっていることが考えられた。野生型の清酒酵母は、基本的には泡有り株であることから、泡無し株しか取れていない結果からも、上記のことが推測される。

表6-1 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ

	3-大1	3-大2	3-大3	3-大4	3-大5	3-大6	3-大7	3-大8
重量減少量 (g)	8.48	8.83	8.56	8.74	8.67	8.73	8.62	8.56
日本酒度 (-)	9.8	8.8	8.7	9.1	8.1	7.9	7.9	7.6
酸度 (mL)	2.9	2.9	3.2	3.1	3.0	3.3	3.2	3.1
アミノ酸度 (mL)	1.8	2.1	1.9	1.9	2.0	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	16.1	17.2	16.6	17.6	19.1	19.6	17.3	17.8
Glucose (%)	0.6	1.0	1.0	0.5	0.7	0.5	0.5	0.7
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	250.8	247.1	253.4	248.1	253.5	237.2	238.2	243.3
酢酸イソアミル (ppm)	9.5	9.1	11.8	8.4	11.2	8.8	8.6	10.0
カプロン酸エチル (ppm)	2.0	1.8	2.1	1.8	1.9	2.0	1.8	2.0
酢酸エチル (ppm)	153.5	136.9	176.6	127.0	173.1	139.5	138.3	153.7
イソブチルアルコール (ppm)	107.8	109.9	114.8	111.3	113.2	104.4	106.1	110.6
E/A (-)	3.8	3.7	4.7	3.4	4.4	3.7	3.6	4.1
遺伝子断片の増幅								
YDRWdelta25	△	△	△	△	△	△	△	△
YELWdelta5	○	○	○	○	○	○	○	○
YGRWdelta21	△	△	△	△	△	△	△	△
YLRWdelta20	○	○	○	○	○	○	○	○
YPLWdelta7	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 6-2 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-大9	3-大10	3-大11	3-大12	3-大13	3-大14	3-大15	3-大16
重量減少量 (g)	9.02	9.13	9.07	9.03	8.98	8.77	9.21	8.89
日本酒度 (-)	9.0	8.1	7.5	7.2	8.2	7.8	7.9	8.8
酸度 (mL)	3.2	3.2	3.3	3.1	3.3	3.3	3.2	3.3
アミノ酸度 (mL)	1.9	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9	2.0	2.0
EtOH (%(v/v))	18.3	17.4	19.1	18.5	16.7	17.3	16.9	17.8
Glucose (%)	1.0	0.7	0.5	0.7	1.0	1.0	0.5	1.0
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	243.3	240.1	240.2	242.3	244.0	241.8	229.7	237.5
酢酸イソアミル (ppm)	7.2	7.5	7.3	7.7	7.7	7.9	7.2	8.0
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	1.9	1.8	1.9	2.0	2.0	1.8	2.0
酢酸エチル (ppm)	118.4	110.8	109.3	119.6	130.7	123.3	104.9	121.7
イソブチルアルコール (ppm)	107.0	104.2	104.3	105.9	106.1	105.0	100.7	107.3
E/A (-)	3.0	3.1	3.0	3.2	3.2	3.2	3.2	3.4
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 6-3 酒造期外の菩提酏酵母大コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-大17	3-大18	3-大19	3-大20	3-大21	3-大22	3-大23	3-大24
重量減少量 (g)	8.82	8.97	8.69	9.37	8.53	8.62	8.65	8.67
日本酒度 (-)	8.2	8.4	7.3	8.7	8.8	8.5	7.6	7.5
酸度 (mL)	3.3	3.2	3.2	3.2	3.1	3.1	3.1	3.1
アミノ酸度 (mL)	2.0	1.9	2.0	1.9	1.9	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	17.9	17.3	18.1	17.8	17.8	17.2	17.1	18.1
Glucose (%)	1.0	0.7	0.7	0.7	1.0	1.0	0.7	1.1
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	237.3	239.7	245.9	235.8	246.9	242.3	245.1	244.1
酢酸イソアミル (ppm)	6.7	8.4	9.1	7.5	11.2	12.2	9.3	12.8
カプロン酸エチル (ppm)	1.9	2.0	2.2	2.0	2.2	2.1	2.1	2.2
酢酸エチル (ppm)	109.4	122.1	151.5	118.4	146.7	182.1	138.6	190.1
イソブチルアルコール (ppm)	104.9	104.4	109.1	100.7	109.4	107.7	108.0	110.9
E/A (-)	2.8	3.5	3.7	3.2	4.5	5.1	3.8	5.2
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
酵母の系統	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?	K6系?

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-1 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ

	3-小1	3-小2	3-小3	3-小4	3-小5	3-小6	3-小7	3-小8
重量減少量 (g)	8.37	8.55	8.38	8.43	8.61	8.38	8.51	8.61
日本酒度 (-)	5.7	6.6	6.3	6.8	6.2	7.2	6.3	6.6
酸度 (mL)	3.2	3.2	3.2	3.3	3.2	3.3	3.2	3.2
アミノ酸度 (mL)	1.9	2.0	2.0	1.9	2.0	1.9	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	17.6	17.7	17.7	17.3	15.8	16.6	16.4	17.2
Glucose (%)	0.7	1.1	1.2	0.5	0.8	0.8	0.5	0.5
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	249.0	247.2	252.0	258.7	249.5	262.2	257.2	259.5
酢酸イソアミル (ppm)	8.8	10.7	12.1	10.8	8.9	13.1	11.0	10.6
カプロン酸エチル (ppm)	1.6	2.0	2.1	2.1	1.9	2.2	2.2	2.0
酢酸エチル (ppm)	123.0	144.8	158.0	147.8	119.9	172.5	139.2	144.2
イソブチルアルコール (ppm)	115.4	114.5	118.9	118.0	114.5	119.7	116.6	123.5
E/A (-)	3.5	4.3	4.8	4.2	3.6	5.0	4.3	4.1
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-2 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-小9	3-小10	3-小11	3-小12	3-小13	3-小14	3-小15	3-小16
重量減少量 (g)	8.61	8.63	8.57	8.54	8.37	8.49	8.17	8.36
日本酒度 (-)	6.6	6.6	7.3	5.9	3.3	4.9	4.3	5.3
酸度 (mL)	3.2	3.3	3.2	3.4	3.4	3.2	3.3	3.2
アミノ酸度 (mL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.1	2.0	1.9	2.0
EtOH (%(v/v))	15.9	15.2	15.5	15.6	15.7	16.2	15.7	14.4
Glucose (%)	0.8	1.1	0.8	0.8	1.4	1.3	1.3	1.3
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	254.2	253.6	255.8	252.6	244.2	251.2	256.2	264.6
酢酸イソアミル (ppm)	10.9	11.6	11.1	9.9	10.3	11.9	15.9	18.4
カプロン酸エチル (ppm)	2.1	2.2	2.2	2.0	2.0	2.1	1.8	2.3
酢酸エチル (ppm)	112.9	148.6	140.7	141.8	138.5	156.0	187.4	252.9
イソブチルアルコール (ppm)	118.6	115.8	111.1	118.9	117.3	120.0	131.1	124.4
E/A (-)	4.3	4.6	4.3	3.9	4.2	4.7	6.2	7.0
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

表 7-3 酒造期外の菩提酏酵母小コロニーの評価のまとめ (続き)

	3-小17	3-小18	3-小19	3-小20	3-小21	3-小22	3-小23	3-小24
重量減少量 (g)	8.54	8.54	8.65	8.63	8.45	8.62	8.50	8.65
日本酒度 (-)	5.6	5.9	6.3	5.0	5.2	6.9	6.5	6.2
酸度 (mL)	3.3	3.2	3.1	3.2	3.2	3.2	3.3	3.3
アミノ酸度 (mL)	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	2.0	2.0	2.0
EtOH (%(v/v))	14.9	14.8	15.5	18.7	14.4	14.5	15.7	15.4
Glucose (%)	1.3	0.9	1.2	1.2	1.3	1.3	1.2	1.2
Maltose (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
イソアミルアルコール (ppm)	256.3	265.1	249.5	254.5	251.9	245.6	250.1	249.7
酢酸イソアミル (ppm)	14.4	15.5	13.8	9.1	14.4	10.3	11.7	10.8
カプロン酸エチル (ppm)	2.3	2.4	2.5	2.2	2.3	2.3	2.4	2.2
酢酸エチル (ppm)	193.6	209.7	184.3	133.2	192.3	150.4	167.4	148.2
イソブチルアルコール (ppm)	120.8	120.2	112.6	121.9	119.4	111.8	113.7	117.3
E/A (-)	5.6	5.9	5.5	3.6	5.7	4.2	4.7	4.3
遺伝子断片の増幅								
<i>YDRWdelta25</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YELWdelta5</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>YGRWdelta21</i>	△	△	△	△	△	△	△	△
<i>YLRWdelta20</i>	○	○	○	○	○		○	○
<i>YPLWdelta7</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K7系	K7系	K9系	K7系	K7系

○：指定サイズに増幅あり、△：指定サイズ以外の増幅あり

4 まとめ

酒造りは、紀元前3000年頃にはメソポタミア文明やエジプト文明の遺物に記録が残っており⁴⁾、人類最初のバイオテクノロジーといえる。その酒造りのアルコール発酵を担っているのが酵母 *Saccharomyces cerevisiae* であり、人類の身近な有用微生物の一つである。*S. cerevisiae* は、清酒だけでなく、パン、ワイン、ビール、焼酎など様々な発酵に食品使われているが、それぞれの食品に適した進化を遂げている。

本研究では、土田酒造が独自性をアピールするために取り組んだ、菩提酏造りで湧いてきた蔵付き酵母を単離し、醸造特性と遺伝的な系統解析を行った。清酒酵母は、先に挙げたとおり同じ *S. cerevisiae* に属していても、ワインやビール、パンなどに使われるものと系統的に離れており、独自の進化をしている。その一つとされているのが炭酸ガスに細胞が付着して高泡形成をする「泡あり」という性質である。今回単離した菩提酏酵母は全て「泡無し」であり、

昭和に入ってから開発された優良清酒酵母が蔵付きの主体になっていることが推測された。一方、*YGRWdelta21* は K7 系以前の古い清酒酵母特有の部位であり、菩提酏酵母の多くが指定サイズ以外の増幅があったことから、純粋な優良清酒酵母の住み着きとは言えないのかも知れない。今後は、酵母を選抜してより詳細に解析する。

謝 辞

本研究の一部は、土田酒造株式会社との平成30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。

文 献

- 1) 松澤一幸ら：日本醸造協会誌 97、734-740 (2002)
- 2) 秋元裕一ら：日本醸造協会誌 75、314-319 (1980)
- 3) 榎田麻希ら：平成29年度群馬県立産業技術センター研究報告、50-57
- 4) 独立行政法人酒類総合研究所：うまい酒の科学 (2006)

土田酒造蔵付き酵母を用いた実地醸造試験と全ゲノム解析

渡部貴志・柳澤昌臣・星野元希*・土田祐士*・赤尾 健**

Demonstration of on-site brewing experiments using Tsuchida shuzo house sake yeast and its whole genome analysis

WATANABE Takashi, YANAGISAWA Masaomi, HOSHINO Genki*,
TSUCHIDA Yuji* and AKAO Takeshi **

清酒酵母の能力は、清酒の吟醸香と味に大きく影響を与える。我々は、山田錦を用いた総米200 gの小仕込み試験により、土田酒造蔵付き酵母から優良な醸造特性を示す酵母2小-4を選抜した。また、土田酒造において山廃もと造りで総米500 kgの実地醸造試験を実施し、対照株のきょうかい701号（K701）に比べ、2小-4で造ったお酒は酢酸イソアミルの濃度が2倍以上高かった。これらのことから2小-4は、IDO酵母として実用化することになった。一方、2小-4を含む5株の土田蔵付き酵母の全ゲノム解析を行い、より詳細に系統を調べることができた。

キーワード：蔵付き清酒酵母、実地試験醸造、全ゲノム解析

The quality of *ginjyo*-aroma and taste on brewed sake is directly affected by the ability of sake yeast. We demonstrated the small scale (200 g of total rice) sake brewing test using yamadanisiki, and selected strain 2S-4 from house sake yeast of Tsuchida shuzo. By 500 kg of on-site brewing experiments revealed that brewed sake with strain 2S-4 contains twice higher concentrate of acetic-isoamyl than that with strain K701. Therefore, strain 2S-4 was named IDO yeast and practicalized. Additionally, 5 house sake yeasts were demonstrated whole-genome analysis.

Keywords: house sake yeasts, on-site brewing experiments, whole genome analysis

1 はじめに

近年の地酒ブームにより、全国各地の酒造会社は、独自性があり高品質な清酒の開発に取り組んでいる。その取り組みの一つにアルコール発酵と香味に影響する清酒酵母の差別化があり、(公財)日本醸造協会が頒布する優良清酒酵母や、県独自で開発された酵母などを、目的とする酒質に合わせて選び、用いている。土田酒造株式会社(土田酒造)では、菩提酛(ぼだいもと)造り¹⁾という蔵付き酵母の育成を促す手法を用い、酵母無添加の清酒造りを行った。

バイオ・微生物係

* 土田酒造株式会社

** 独立行政法人酒類総合研究所

我々は、その過程の中で酵母を単離し、醸造特性と系統解析を行ったところ、全てが泡無し株であり、優良清酒酵母の系統であることが分かった²⁾。また、蔵付き酵母の醸造特性には、多様性が認められたことから、土田酒造の独自性を示しやすい株を探し出せると考えられた。

しかしながら、前回の報告では α 化米と乾燥麴をもちいた総米20 gの小仕込み試験の結果でしか無く、試験ロット間でも成分値の比較がしにくかった。このことから、規模をもう少し大きくし、候補株を絞って再度の選抜試験を行う必要があると考えられた。そこで本研究では、139株の土田酒造蔵付き酵母から、取得時期と醸造特性、きょうかい7号(K7)系かK7系以外かを

指標に、土田酒造独自酵母の候補として16株を選抜し、再度の選抜試験を行った。

また、土田酒造では全量生醗系酒母造りを行っていることから、中温速醗造りで行う群馬産業技術センターのパイロットプラントでの試験醸造は、土田酒造の酒質には参考になりにくいとも考えられた。よって、上記試験で最終選抜した2小-4について、土田酒造で実地醸造試験を行い、酒質を調査し、最終的に「IDO酵母」として実用化することになった。さらに、小仕込み試験で醸造特性に優れた株について、(独)酒類総合研究所で全ゲノム解析を行って頂いたのを併せて報告する。

2 実験材料と方法

2.1 供試酵母

土田酒造蔵付き酵母は、前報¹⁾のものの中から16株選抜して用いた。また、選抜した2小-4の実地醸造試験では、対照に日本醸造協会のきょうかい701号(K701)を用いた。

2.2 山田錦を用いた小仕込み試験

土田酒造蔵付き酵母16株に対し、平成29年度兵庫産山田錦40%精米を用いた総米200gの小仕込み試験を、表1に示す仕込み配合で行った。麴エキス(Brix 5°)2.5 mLに酵母を一白金耳接種し、23°Cで2日間静置培養を行った。これを酒母の代わりに用い、滅菌酒母用汲水12 mLに置換したものを添加した。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。掛米は洗米後、38%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。汲水は水道水を用い、追水は蒸留水で4日目に10 mL、7日目と11日目に15mLずつ行った。仕込み温度は8~12°Cで経日的に変化させる吟醸造りとした。

表1 山田錦を用いた小仕込み配合

	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
汲水(mL)	12	58	200	40	300
温度(°C)	-	12	8~12	-	-

上槽は、28日後に遠心分離(7000×g, 15 min)で行い、得られた製成酒について、後述する成分分析と、土田酒造清酒製造技術者2名、センター職員2名で官能評価を行い、実地試験醸造に用いる最終候補株を選抜した。

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。香氣成分(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 実地醸造試験

山田錦を用いた小仕込み試験で選抜した候補株(2小-4)を用い、平成30年度群馬県産あさひの夢70%精米を用いた総米500kgの実地醸造試験を行った。群馬産業技術センターで麴エキス(Brix 5°)500 mLの拡大培養を行い、冷蔵の宅配便で土田酒造に輸送した。酒母は山廃もと造り、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。なお、対照としてK701を用いた。製成酒については、センター職員3名で官能検査を行った

2.5 土田蔵付き酵母の全ゲノム解析

実地醸造試験で用いた土田2小-4に加え、前報¹⁾の系統解析で異なる由来であり、山田錦を用いた小仕込み試験で発酵力が高かった4株(2中-20、3大-21、3小-16、1-7大)について、全ゲノム解析を行った。

各酵母をYM寒天培地(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、寒天20 g/L)に接種し、培養は行わず、(独)酒類総合研究所に常温で輸送した。酵母の諸性質を調べた後、全ゲノム解析を外部委託により行った。

3 結果と考察

3.1 小仕込み試験結果と株の選抜

いずれの株でも70%精米のα化米を用いて行った試験²⁾と比較して、酸度とアミノ酸度が明らかに減少しており、かつエタノ

ール (EtOH) と日本酒度が株間で大きくバラツキが出た (表 2)。これらのことから、酵母の増殖に必要な栄養成分が少ない高精白の山田錦を用いることで、醸造特性の株間の差が分かりやすくなることが確認された。

全株の中でも 1-7 は K9 系、2 中 -20 は KAZE 酵母系 (K9 系でカプロン酸エチルを出す) で発酵経過が良く、3 小 -16 (K7

系) は全ての株の中で最も発酵力が強い株であった (図 1)。一方、小仕込み試験酒の官能評価により、2 小 -4 を実地醸造試験用の最終選抜株として選んだ。この株は、2 回の独立した試験でも醸造特性が安定し、発酵力が高く、かつ K7 系と分類されながら酢酸イソアミルの生産量が高く、小仕込み試験の分析結果と重ねても独自性が高いことが確認された。

表 2 山田錦を用いた小仕込み試験各分析値のまとめ

	1-7大	1-12小	2大-8	2大-22	2中-2	2中-5	2中-20	2中-21
重量減少量 (g)	55.0	56.9	56.1	48.0	51.5	48.9	51.8	48.0
日本酒度 (-)	-0.7	-0.5	-1.1	-12.1	-2.3	-4.6	0.1	-1.5
酸度 (mL)	2.0	2.0	2.1	1.9	1.7	1.6	1.6	1.6
アミノ酸度 (mL)	15.0	15.2	15.2	12.9	14.0	13.4	14.1	14.0
EtOH (%(v/v))	1.0	1.1	1.0	1.2	1.1	1.2	1.1	1.2
Glucose (%)	2.1	2.0	2.1	3.4	2.5	2.8	2.2	2.4
Maltose (%)	1.0	1.0	1.0	1.4	0.8	1.0	0.7	0.8
イソアミルアルコール (ppm)	164.7	182.0	178.6	172.0	165.0	153.9	155.8	157.4
酢酸イソアミル (ppm)	4.0	5.0	4.6	4.7	5.1	5.1	4.9	5.4
カプロン酸エチル (ppm)	1.3	1.8	1.7	1.2	7.3	5.9	6.2	7.4
酢酸エチル (ppm)	74.3	85.1	78.4	65.3	60.9	53.6	60.3	63.4
イソブチルアルコール (ppm)	58.8	66.2	65.5	72.1	64.3	67.0	63.9	60.7
E/A (-)	2.5	2.8	2.7	2.7	3.1	3.4	3.2	3.4
酵母の系統	K9系	K7系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系	K9系

	2小-4	2小-14	2小-23	3大-15	3大-21	3小-9	3小-16	3小-22
重量減少量 (g)	56.5	49.2	45.7	52.2	53.6	55.1	58.0	54.7
日本酒度 (-)	-0.2	-15.0	-16.2	-6.0	-2.7	-3.3	1.7	-2.2
酸度 (mL)	2.1	1.9	1.7	2.1	2.0	2.0	2.0	2.0
アミノ酸度 (mL)	15.1	13.1	12.3	13.8	14.4	14.7	15.6	14.6
EtOH (%(v/v))	0.9	1.2	1.1	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0
Glucose (%)	2.1	3.9	4.0	2.7	2.4	2.5	2.0	2.5
Maltose (%)	0.8	1.2	1.3	1.0	0.9	0.9	0.7	0.8
イソアミルアルコール (ppm)	217.5	154.8	152.5	166.1	166.9	198.5	205.6	173.7
酢酸イソアミル (ppm)	8.5	6.1	5.4	4.1	4.5	7.2	7.7	4.8
カプロン酸エチル (ppm)	2.1	1.6	1.3	1.5	1.8	1.9	2.3	1.9
酢酸エチル (ppm)	104.4	68.3	68.6	69.3	75.0	86.5	92.9	75.5
イソブチルアルコール (ppm)	85.0	64.2	64.7	57.8	55.1	72.3	78.1	58.8
E/A (-)	3.9	3.9	3.4	2.5	2.7	3.6	3.8	2.8
酵母の系統	K7系	K7系	K7系	K6系?	K6系?	K7系	K7系	K7系

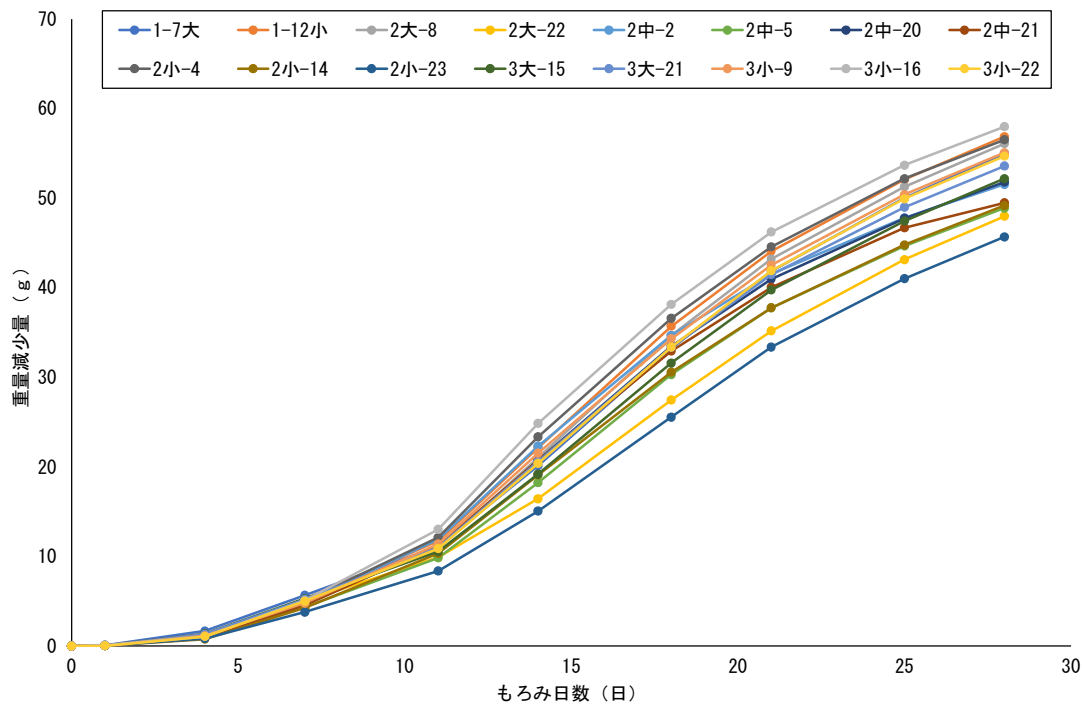


図1 山田錦小仕込み試験での炭酸ガス重量減少量の経日変化
 総米200gの山田錦40%精米で2回の独立した試験の平均値を示す。

3.2 実地醸造試験による評価

小仕込み試験による最終選抜株2小-4を用い、群馬県産あさひの夢70%精米で総米500kgの実地醸造試験を行った。製成酒は、対照のK701に比べ、酢酸イソアミルが高い反面、酢酸エチルの値も高くなっていた(表3)。また、3名の評価者による官能評価では、酸味と甘味が特徴として挙げられ、土田酒造の酒質の特徴に適した仕上がりと感じられた。なお、本酵母は、IDO酵母と命名し、令和元年度より実用化している。

表3 実地試験醸造酒の分析値

	K701	2小-4
Glucose (%)	1.3	2.0
Maltose (%)	0.4	0.9
イソアミルアルコール (ppm)	257.4	214.7
酢酸イソアミル (ppm)	4.0	6.8
カプロン酸エチル (ppm)	1.4	1.3
酢酸エチル (ppm)	100.9	150.7
イソブチルアルコール (ppm)	110.5	85.0
E/A (-)	1.6	3.2

3.3 土田蔵付き酵母の系統解析

前報で我々が行った酵母の系統解析²⁾は、簡易識別法のPCR増幅断片の有無を見ているに過ぎず、土田酒造蔵付き酵母の正確な由来を判断するのは難しい。(独)酒類総合研究所では、日本醸造協会が頒布している優良清酒酵母や、全国各地の清酒酵母の全ゲノム解析を行い、膨大なゲノム情報を蓄積している。(独)酒類総合研究所のゲノム解析を行う枠から、5つ頂けることができたので、最終選抜株2小-4と特徴のある4株の解析をすることにした。

まず、各酵母の識別を表4のように整理し、諸性質を調べた。フローサイトメトリー(Propidium Iodide: PI染色)による染色体倍数性推定では、用いた5株はいずれも2倍体であることが分かった(図2)。

表4 各酵母の識別と名前の対応

識別	酵母名
Gunma1_T2S4	2小-4 (IDO酵母)
Gunma2_T2M20	2中-20
Gunma3_T3L21	3大-21
Gunma4_T3S16	3小-16
Gunma5_T1-7	1-7大

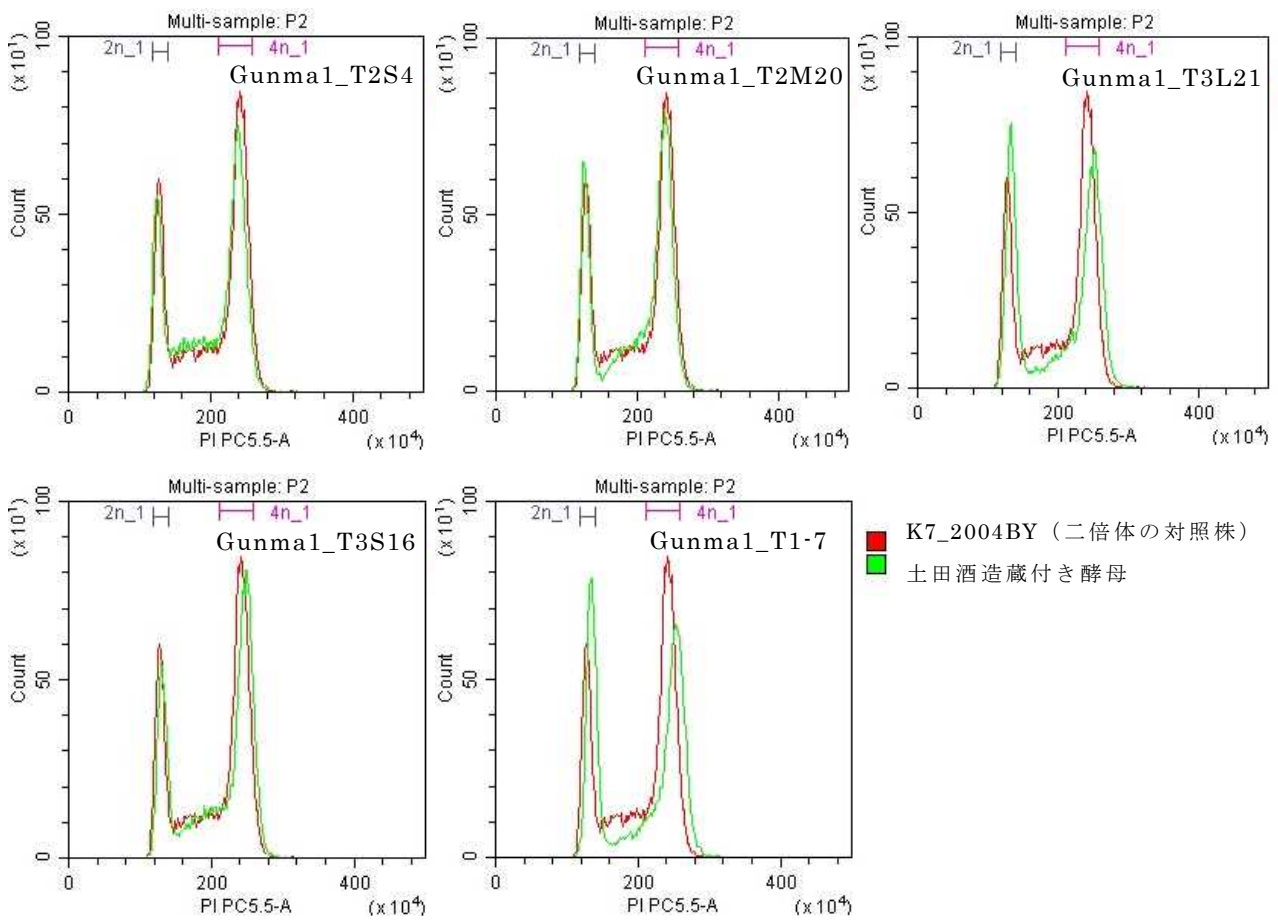


図2 フローサイトメトリー（PI染色）による染色体倍数性推定結果

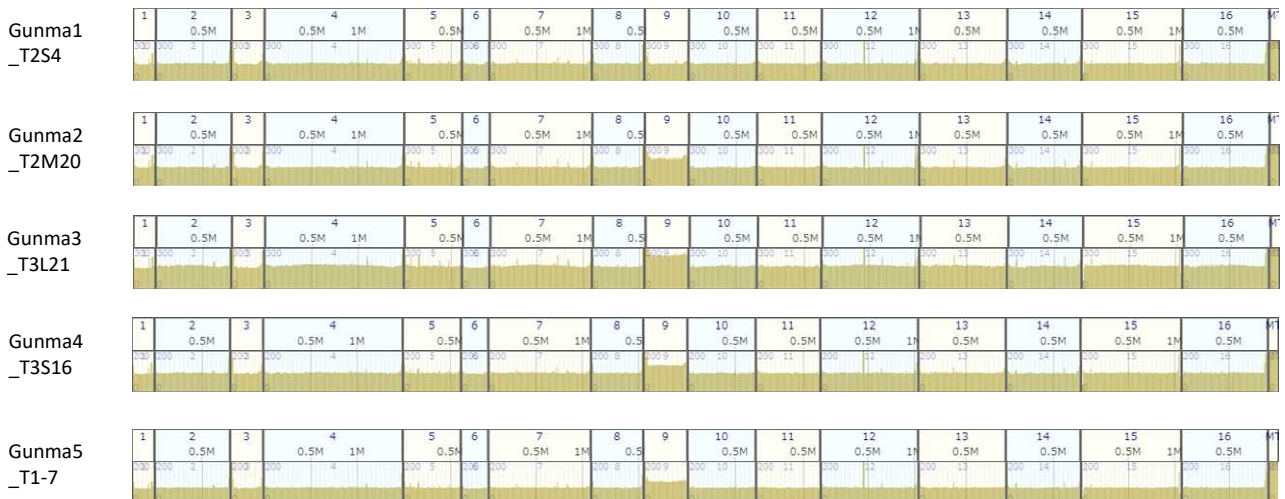


図3 染色体異数性の有無の評価

つづいて、K7ゲノムを参照配列とし、各酵母の全ゲノム配列データをマッピングして染色体異数性を調べたところ、IDO酵母と命名した2小-4（T2S4）は、K7ゲノムと染色体が同数であったのに対し、その他の酵母は9番染色体の深度が深く、3本であることが推測された（図3）。

さらに、全ゲノム配列データを用いて系統解析を行ったところ、2小-4と3小-16は、K7系統に属し、その他の3株はK9系統に属していることが明らかとなった（data not shown）。我々は、3大-21をK6系であると予測してしたが²⁾、K9系統に属していたため、簡易識別法の限界と考えられる。

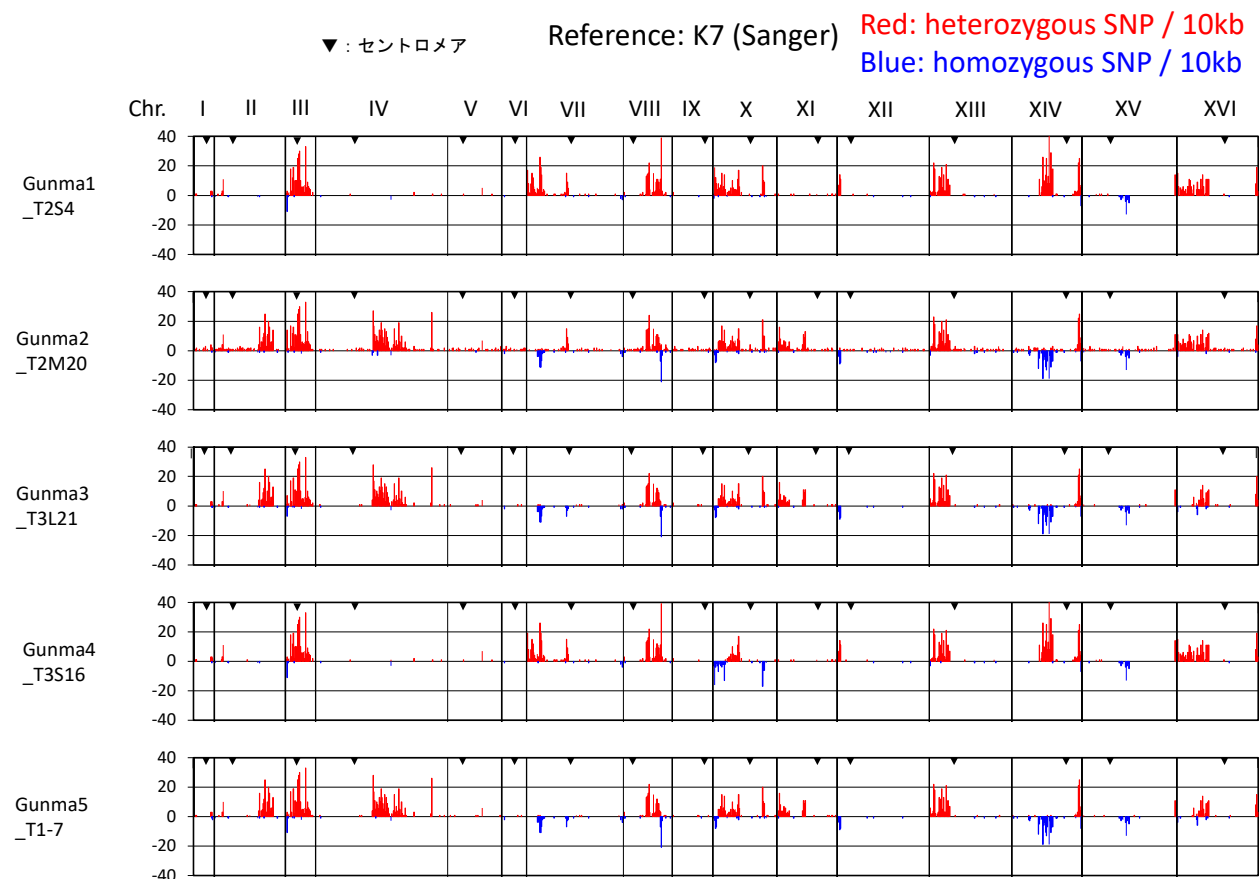


図4 SNP解析の結果

一方、2大-20は、K9系統に入るが、最近のK901の系統である1-7大、3大-21とは分岐した位置にあった（data not shown）。我々は、2大-20がカブロン酸エチル高生産性を示すK9系酵母であることから、平成4年のK901を親株とするKAZE酵母と推測しており²⁾、それを補完するデータとなっていると考えられた。

K7を参照配列にしたSingle Nucleotide Polymorphism (SNP) 解析によると、K7系統の2小-4と3小-16、K9系統の2中-20、3大-21、1-7大はそれぞれ似た位置に一塩基多型が見受けられる（図4）。一方で、細かく見ると2中-20は、3大-21、1-7大に比べて新規なヘテロ変異が入っており、系統樹の枝が長いこと（data not shown）とも一致していた。

4 まとめ

本研究では、土田酒造株式会社の菩提醸造りのもろみの中から分離した139株の蔵付き酵母から、K701より酢酸イソアミル

生産性が良い2小-4を選抜し、実地醸造試験を経てIDO酵母と命名し、実用化を行った。また、全ゲノム解析により系統解析を行い、5株の供試株はそれぞれK7またはK9系統に属していると判明した。

なお、今回の実地醸造試験に用いていない他の3株（1-7大、2中-20、3小-16）についても、これまでの清酒酵母とは特徴が異なるため、独自性が高い新規酵母として有望である。

謝 辞

本研究の一部は、土田酒造株式会社との平成30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。全ゲノム解析は、（独）酒類総合研究所の研究費で実施して頂いた。

文 献

- 1) 秋元裕一ら：日本醸造協会誌 75、314-319 (1980)
- 2) 渡部貴志ら：令和3年度群馬県立産業技術センター研究報告、38-50

群馬県立産業技術センター研究報告
令和3年度（2021）
令和4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
