

平成26年度
研究報告

REPORTS OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY CENTER OF
WAKAYAMA PREFECTURE



WINTEC

和歌山県工業技術センター

研究報告発刊にあたって

「平成26年度研究報告」の冊子を発刊いたしました。

本冊子では、和歌山県工業技術センターが平成25年度から平成26年度の間を実施した研究の内、平成27年度中に公表可能となった研究成果を掲載しております。

当センターでは、実施した研究事業全ての課題名と概要を「業務年報」上で公表しております。各事業で得られた研究成果については、共同研究先の意向や特許出願などの状況により、公表可能になったものから順次「研究報告（本冊子）」に掲載しております。

平成26年度に実施した研究事業は、所内選定による地域産業活性化促進事業15件、県内選定による未来企業育成事業3件や農林水産競争力アップ技術開発事業2件、国等の委託・補助事業では戦略的基盤技術高度化支援事業3件、農林水産技術会議委託プロジェクト研究（再委託）1件、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業実用技術開発ステージ1件でした。これ以外にも県内企業からの依頼による受託研究24件を実施しました。これらの概要については、平成27年10月に発刊した「和歌山県工業技術センター 平成26年度業務年報」をご参照下さい。

本冊子「平成25年度研究報告」には、平成26年度に実施した研究から7報、過年度実施分から1報の計8報の報告書を収録しました。少しでも皆様のお役に立つ事ができれば幸いです。

当報告書について、ご意見やご質問などございましたらお気軽にご連絡下さい。

連絡先 和歌山県工業技術センター 企画総務部 技術企画課
〒649-6261 和歌山市小倉60番地
TEL : (073) 477-1271
FAX : (073) 477-2880
ウェブサイト : <http://www.wakayama-kg.jp/>

（ウェブサイトにおいて、過去数年分の課題一覧やカラーでご覧頂ける「研究報告」、「業務年報」などのセンター刊行物を公開しております。）

目次

1	醸造用酵母の開発に関する研究	藤原真紀、赤木知裕	1
2	ウメ「露茜」の色を活かした食品素材の開発 ー他のウメ品種のブレンドがジャムの品質に与える影響ー	片桐実菜、根来圭一、赤木知裕、森一	3
3	ガス化発電用バイオ燃料の開発に向けた基礎研究	山際秀誠、中村允	7
4	ユーグレナ由来多糖類の食品化に向けた基礎研究	中村 允、山際秀誠、山西妃早子、片桐実菜	9
5	新再織生地の開発 ーモール糸形態の客観評価技術ー	宮本昌幸、解野誠司、大萩成男	11
6	二相系マイクロリアクターを利用した芳香族求核置換反応	森 一、土谷 茜、森 めぐみ、多中 良栄	13
7	微量ナトリウムおよび鉄の濃縮法の開発	松本明弘、多中良栄、大崎秀介、木村美和子、東裏典枝	16
8	高野槇精油芳香剤開発のための基礎研究	則藤真理子、石井光代、堀内達司、橋爪 崇	19

醸造用酵母の開発に関する研究

(食品産業部) 藤原真紀、赤木知裕

要 旨

和歌山県工業技術センター所有の和歌山2号酵母を元株として、新たな酵母の育種を行った。元株に変異処理を行い、選抜、小仕込み試験を行うことで、吟醸酒の主要な香り成分の一つであるカプロン酸エチルを元株より多く生産する株を取得した。しかしながら、もろみ日数が長いなどの検討課題も明らかとなった。

1. 緒言

清酒醸造において、酵母はアルコールだけでなく清酒の香りを決める多くの成分を生成する。使用する酵母の菌株により、これら成分の生成バランスは異なるため、酵母の選択は製品設計の上で大きなファクターとなる。また、近年、特に清酒の多様化、差別化の観点から、新しい酵母菌株の育種が求められている。和歌山県工業技術センターでは、これまで和歌山県オリジナル酵母を配布してきたが、県内の酒造メーカーからは「オリジナル酵母にもっと多様性を持たせ、選択の幅を広げて欲しい」との要望が聞かれる。

そこで本研究では、センターが保有する和歌山県オリジナル酵母に変異を導入し、セルレニン耐性¹⁾を利用して優良香り成分高生産株の分離選抜を試みた。

2. 実験方法

2. 1 使用菌株

当センター所有の和歌山2号酵母を使用した。また、対照菌株として現在清酒醸造で広く用いられているK901 (RIB1007)、K7 (RIB1003)を使用した。

2. 2 培地

酵母の培養には、YM 培地 (酵母エキス: 0.3%、麦芽エキス: 0.3%、ポリペプトン: 0.5%、グルコース: 1.0%)、YPD 寒天培地 (酵母エキス: 1.0%、ポリペプトン: 2.0%、グルコース: 2.0%、寒天: 1.5%)、麴汁培地 (Brix10) を使用した。セルレニン含有培地は YPD 培地にセルレニンを 25 μ M とするよう

2. 3 セルレニン耐性株の分離

紫外線による変異処理は和池らの方法²⁾を一部改変して行った。また、EMS (ethyl methanesulfonate) を用いた酵母の変異処理は市川らの方法³⁾を一部改変して行った。変異処理を行った後、菌株をセルレニン含有 YPD 培地に塗布し、30°C で培養後、生育した単コロニーを分離した。

2. 4 カプロン酸エチル (吟醸香) 高生産株の選択 液体発酵試験には麴汁培地を使用した。セルレニン

耐性株を植菌し、30°C で3日間静置培養を行った後、遠心分離により上清を回収した。得られた上清のイソアミルアルコール、酢酸エチル、酢酸イソアミル、カプロン酸エチルの各成分を GC-MS により定量し、香り生成能を評価した。

2. 5 清酒小仕込み試験

清酒小仕込み試験は、難波らの方法⁴⁾に従って行った。総米 200g とし、乾燥麴と α 化米を使用して行った。仕込み配合を表 1 に示す。また、生成する炭酸ガスの放出による減少量を経日的に測定し、減少重量が約 60g に達したとき、発酵終了とした。発酵終了後、遠心分離により酒粕を除去し、上清を生成酒とした。

表 1. 仕込み配合

	水麴	添	仲	留	計
総米(g)	10	25	65	100	200
α 化米(g)		25	55	80	160
乾燥麴(g)	10		10	20	40
汲水(ml)	55	7.5	93.5	158	314
水温(°C)	15	15	9	7	1°C昇温/日

2. 6 成分分析

アルコール濃度の測定は、理研計器製アルコメイトを使用した。有機酸分析は島津製作所製有機酸分析システムにより行った。その他の清酒成分は、国税庁所定分析法⁵⁾に従って分析した。

3. 結果と考察

3. 1 セルレニン耐性株の取得

和歌山2号酵母を元株として、紫外線処理、EMS 処理の2種類の変異処理を行った結果、紫外線処理により 313 株、EMS 処理により 131 株の合計 444 株のセルレニン耐性株を取得した。さらに、これらの中から、セルレニン含有プレート上で生育良好なものを選択し、255 株に絞った。

3. 2 カプロン酸エチル高生産株の取得

セルレニン耐性株の中から、110 株を液体培養し、その培養上清を用いて清酒中の代表的な香り成分の分

析を行った。カブロン酸エチル（吟醸香）とイソアミルアルコール（高濃度では溶媒様臭）の量をプロットした結果を図1に示す。測定したものの中から、元株よりカブロン酸エチル量が増加したと思われる8株が得られた。

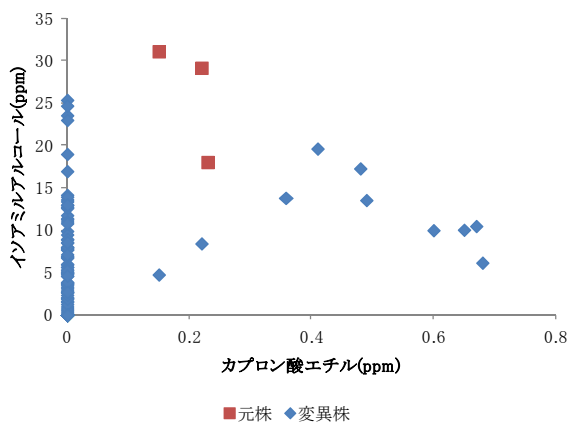


図1. 培養上清中の香气成分

3. 3 清酒小仕込試験

選抜した8株について総米200gの小仕込試験を行った。減少重量を図2に示す。対照株であるK901、K7はもろみ日数（発酵日数）16日、和歌山2号（元株）はもろみ日数19日までに減少重量が60gに達したが、変異株ではもろみ日数20～30日と、元株よりややアルコール耐性が低いことが予想された。

得られた生成酒の香气成分、有機酸、およびセンター職員による官能評価の結果を表2に示す。カブロン酸エチルは全ての変異株において元株より上回っており、特に生成量が多いNo. 74、No. 95では官能評価でも良い評価が得られた。一方で、乳酸、酢酸が多かったNo. 14では官能による評価も低かった。

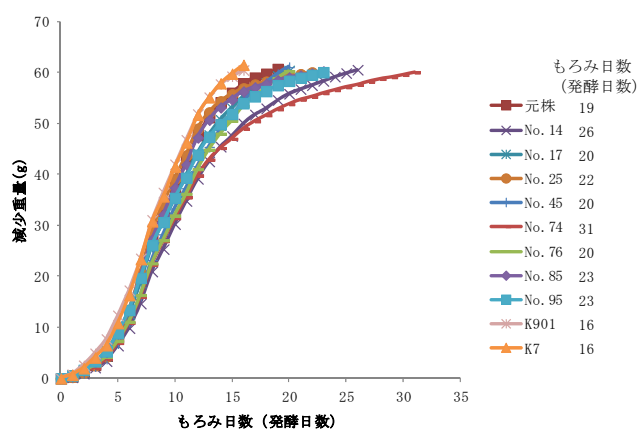


図2. もろみの発酵経過

4. まとめ

当センター所有の和歌山2号酵母を元株として、変異処理を行うことで、吟醸香であるカブロン酸エチルを元株より多く生産する株を取得した。しかしながら、これらの株はアルコール耐性が低下していることが示唆され、実用化に向けた課題となることがわかった。今後も新しい酵母の育種を行っていく予定である。

参考文献

- 1) 市川英二 醸協 1993, 88(2), p.101-105.
- 2) 和池正明、永井和夫 生物学実験書改訂版 日本生物工学会編 2002, pp.135-137.
- 3) 市川英二、秦洋二、今安聡、杉並孝二 公開特許公報 特開平8-23954 1996.
- 4) 難波康之祐、小幡孝之、萱島進、山崎与四良、村上光彦、下田高久 醸協 1978, 73(4), p.295-300.
- 5) 日本醸造協会、国税庁所定分析法注解（第四回改正） 199

3

表2. 小仕込み上清の諸成分と官能評価

	もろみ日数	アルコール	カブロン酸	クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸	官能評価*
	(日)	(%)	エチル (ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
元株	19	18.3	0.95	93.8	337.2	479.3	383.5	361.3	12
No.14	26	17.2	2.28	0.0	158.9	321.6	3762.1	987.3	16
No.17	20	17.9	3.35	12.5	380.0	399.2	1417.4	347.0	13
No.25	22	17.3	2.11	91.4	274.9	414.5	314.5	342.7	12
No.45	20	18.3	2.21	87.3	606.2	389.6	345.3	243.2	13
No.74	31	16.2	6.94	92.4	627.9	335.4	209.3	180.4	8
No.76	20	18.3	4.05	92.3	496.7	402.7	320.7	156.2	11
No.85	23	17.6	2.77	85.1	423.8	368.8	314.8	352.1	10
No.95	23	17.8	4.30	87.7	501.4	241.2	415.4	328.6	8
K901	16	18.6	0.71	96.6	364.6	457.4	469.3	282.0	
K7	16	18.5	0.91	97.3	412.8	483.9	441.0	323.8	

*官能評価はパネラー6人で、3点法（1：良い、2：普通、3：悪い）の合計値を示した。最も評価の高いものが6点、評価の低いものが18点となる。

ウメ「露茜」の色を活かした食品素材の開発 他のウメ品種のブレンドがジャムの品質に与える影響

(食品産業部) 片桐実菜、根来圭一、赤木知裕
(化学産業部) 森一

要 旨

鮮やかな赤色が特徴のウメ新品種「露茜」を用いるジャムの調製に際して、見た目のみならず、香りや食感、味質に優れた嗜好性の高いジャムを調製する方法について検討した。本研究の結果、「露茜」に他のウメ品種「南高」や「翠香」をブレンドすることで、ジャムに梅らしい味質や食感、香りを増強できることが分かった。

1. 緒言

ウメ「露茜」は、2009年に品種登録された新品種であり、果皮および果肉が赤色に着色する特徴を持つ^{1), 2)}。加工後の鮮やかな赤色が商品の付加価値となることから、新たな商材として注目されている。

一方、「露茜」の味質や香りは「南高」や「翠香」と比較して乏しいことが加工原料としての弱点である。本研究では、果実加工品の代表例としてジャムを取り上げ、「露茜」に、梅らしい味質や食感をもつ「南高」、洋ナン様の香気をもつ「翠香」をブレンドすることで、「露茜」の特徴である鮮やかな赤色に加えて味質や香りに優れたジャムを調製できるか検討した。

2. 実験方法

2013年および2014年に和歌山県うめ研究所ほ場植栽の「露茜」、「南高」(青果、完熟果)、「翠香」を試験材料とした。果実は、種を除いて粉碎し、分析時まで -30°C に保管、適宜解凍して使用した。

2. 2 ジャムの調製

表1の通り配合した果肉と、等量のグラニュー糖、少量の水を混合し、ホットプレート(250°C)でBrix 55まで加熱濃縮した。 4°C に一晩以上静置した後、下記の試験に供した。

表1 調製したジャムの配合 (wt/%)

	露茜	南高 (青果)	南高 (完熟果)	翠香
①	100			
②		100		
③			100	
④				100
⑤	50	50		
⑥	50		50	
⑦	50			50
⑧	25	75		
⑨	25		75	
⑩	25			75

2. 3 色調の測定

分光測色計(コニカミノルタ、CM-600D)を用いて、

SCE(正反射光除外)方式でa*値、L*値、b*値を測定した。

2. 4 ゲル強度の測定

ゲル強度の測定にはレオメーター(サン科学、CR-500DX)を用いた。30 ml容ビーカーに充填、ゲル化したジャムを円柱形プランジャー($\phi 20\text{ mm}$)で圧縮し、このプランジャーがジャムに侵入するときの荷重値(N)を単位面積(cm^2)あたりの値として算出した。

2. 5 香気成分分析(SBSE法)

ジャムを水で5倍希釈し、この溶液中にGerstel社製Twisterを投入した。室温1日、溶液中の成分を捕集し、GC/MS(GC部Agilent 7890A、MS部Agilent 5975C、加熱脱着装置Gerstel TDU/CIS4)により分析した。化合物の推定はNIST08およびAroma Office ver.2により行った。分析条件は以下の通りとした。

- ・カラム DB-WAX, $0.25\text{ mm}\phi\times 30\text{ m}$, 膜厚 $0.25\text{ }\mu\text{m}$
- ・カラム温度 40°C (5分) $\rightarrow 4^{\circ}\text{C}/\text{分}\rightarrow 220^{\circ}\text{C}$ (10分)
- ・注入方法 スプリット(10:1)

2. 6 官能評価

20~60代の工業技術センター職員(男性11名、女性4名)を被験者とし、5段階嗜好尺度により評価した。評価項目は、「見た目」「香り」「食感」「梅らしさ」「総合評価」の5項目とした。

3. 結果と考察

3. 1 ジャムの色調

図1に、「露茜」、「南高」の青果、「南高」の完熟果、「翠香」のいずれか1種類を原料に用いたジャム(ジャム①~④)、および「露茜」に「南高」もしくは「翠香」をブレンドして調製したジャム(ジャム⑤~⑩)の色調測定の結果を示す。

ジャム①はジャム②~④と比較してa*値が大きく、L*値およびb*値は小さかった(図1)。すなわち、ジャム①は暗い赤色の色調であった。

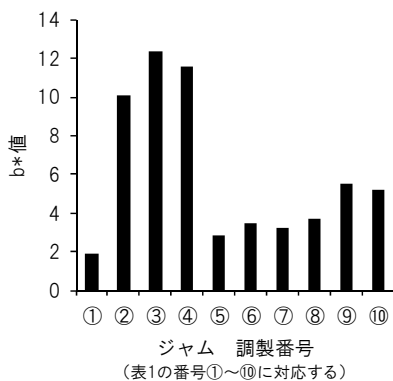
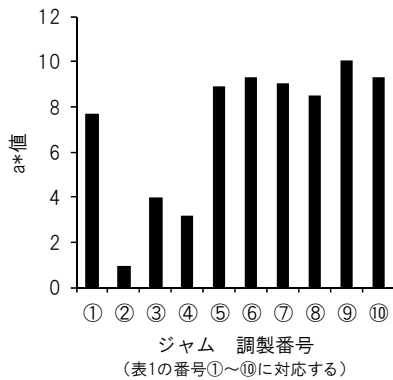
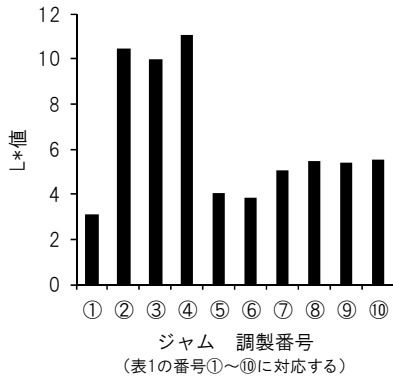


図1. ジャムの色調

また、「露茜」に「南高」あるいは「翠香」をブレンドしたジャム⑤～⑩は、ジャム①より a*値、L*値、b*値のいずれも大きくなった。「露茜」の配合量は25%程度でもジャムが鮮やかな赤色を呈すこと、さらに「南高」や「翠香」をブレンドすることで明るい赤色のジャムを調製できることが分かった。

3. 2 ジャムの物性 (ゲル強度)

ジャム①は、シロップ様 (ゾル状) であり、ゲル化しなかった (ジャムとして十分な粘度が得られなかった)。それ以外のジャム②～⑩について、ゲル強度を測定した結果、「露茜」に「南高」あるいは「翠香」をブレンドすることにより、配合量依存的にジャムのゲル強度は大きくなった (図2)。本研究に用いた果

実では、「南高」青果、「翠香」、「南高」完熟果の順にゲル強度を増加させた。

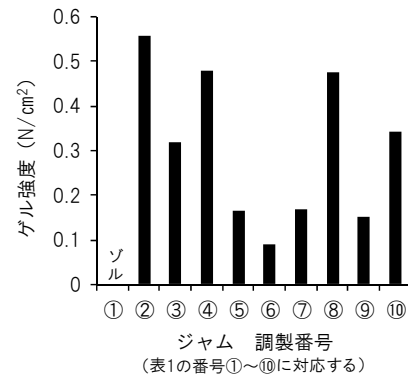


図2. ジャムのゲル強度

3. 3 ジャムの香気成分

「露茜」あるいは「南高」青果のみを原料に用いたジャム①と②、および「露茜」に「南高」の青梅をブレンドしたジャム⑤、⑧は、他と比べて相対的に検出された成分量 (クロマトグラムでのピーク面積の総和) が少なかった (図3、ジャム②と⑧はデータを記載しない)。

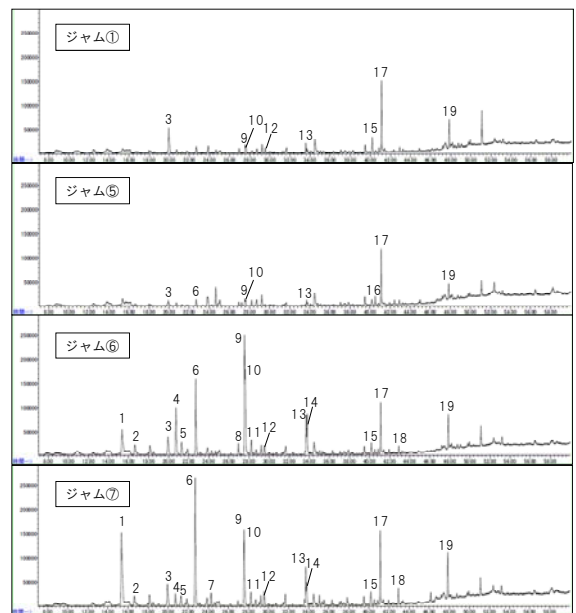


図3. ジャムの香気成分分析 (トータルイオンクロマトグラム) 推定化合物

1: Acetic acid, butyl ester, 2: 2H-Pyran, 2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-, 3: Limonene, 4: Butanoic acid, butyl ester, 5: Hexanoic acid, ethyl ester, 6: Acetic acid, hexyl ester, 7: 3-Hexen-1-ol, acetate, 8: Nonanal, 9: Hexanoic acid, butyl ester, 10: Butanoic acid, hexyl ester, 11: Octanoic acid, ethyl ester, 12: 2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-, 13: Hexanoic acid, hexyl ester, 14: Butyl caprylate, 15: 2,4-Decadienoic acid, ethyl ester, 16: 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, 17: Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester, 18: 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-, 19: 2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-

いずれのジャムも検出された香気成分の大部分がエステル類であった。「露茜」単独では、Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-

1,3-propanediyl ester (ピーク番号 17) はじめ、高沸点のエステル類が多く見られたが (図 3、ジャム①)、「南高」完熟果もしくは「翠香」をブレンドすることにより、Hexanoic acid, ethyl ester (ピーク番号 6) や Butanoic acid, hexyl ester (ピーク番号 10) などの、より低沸点で一般に果実の芳香成分として知られるエステル類が検出されるようになった。この結果は、これらの品種のブレンドによりジャムの香り立ちが良くなることを示唆する。つぎに、これを食味試験により官能的に評価した。

3. 4 ジャムの官能評価

図 4 に、官能評価の結果を示す。ジャム①は、‘見た目’が高く評価されたが、‘香り’‘食感’‘梅らしさ’の評価は低かった。一方、「南高」および「翠香」単独のジャムは、‘見た目’の評価はジャム①と比較して低かったが、‘香り’‘食感’‘梅らしさ’は高く評価された (図 4、ジャム②~④)。「露茜」に「南高」あるいは「翠香」を 50%ブレンドした場合、

‘見た目’はジャム①と同等であり、かつ‘香り’‘食感’‘梅らしさ’で高い評価が得られた (図 4、ジャム⑤~⑦)。「南高」もしくは「翠香」の配合量を 75%としたジャム⑧~⑩は、‘香り’および‘食感’で高い評価が得られたが、‘見た目’の評価はジャム①より低かった。

4. まとめ

「露茜」に「南高」もしくは「翠香」をブレンドし、ジャムを加工したとき、色調、物性、香りや味質に与える影響を検証した。

色調測定および物性測定の結果から、「露茜」単独では、濃い赤色の見目の良いジャムが出来るが、シロップ様でジャムとして十分な粘度が得られなかった。「南高」もしくは「翠香」をブレンドすることにより、75%までの配合であれば「露茜」のアントシアニンの呈色を妨害することなく、ゲル化を促進できることが分かった。

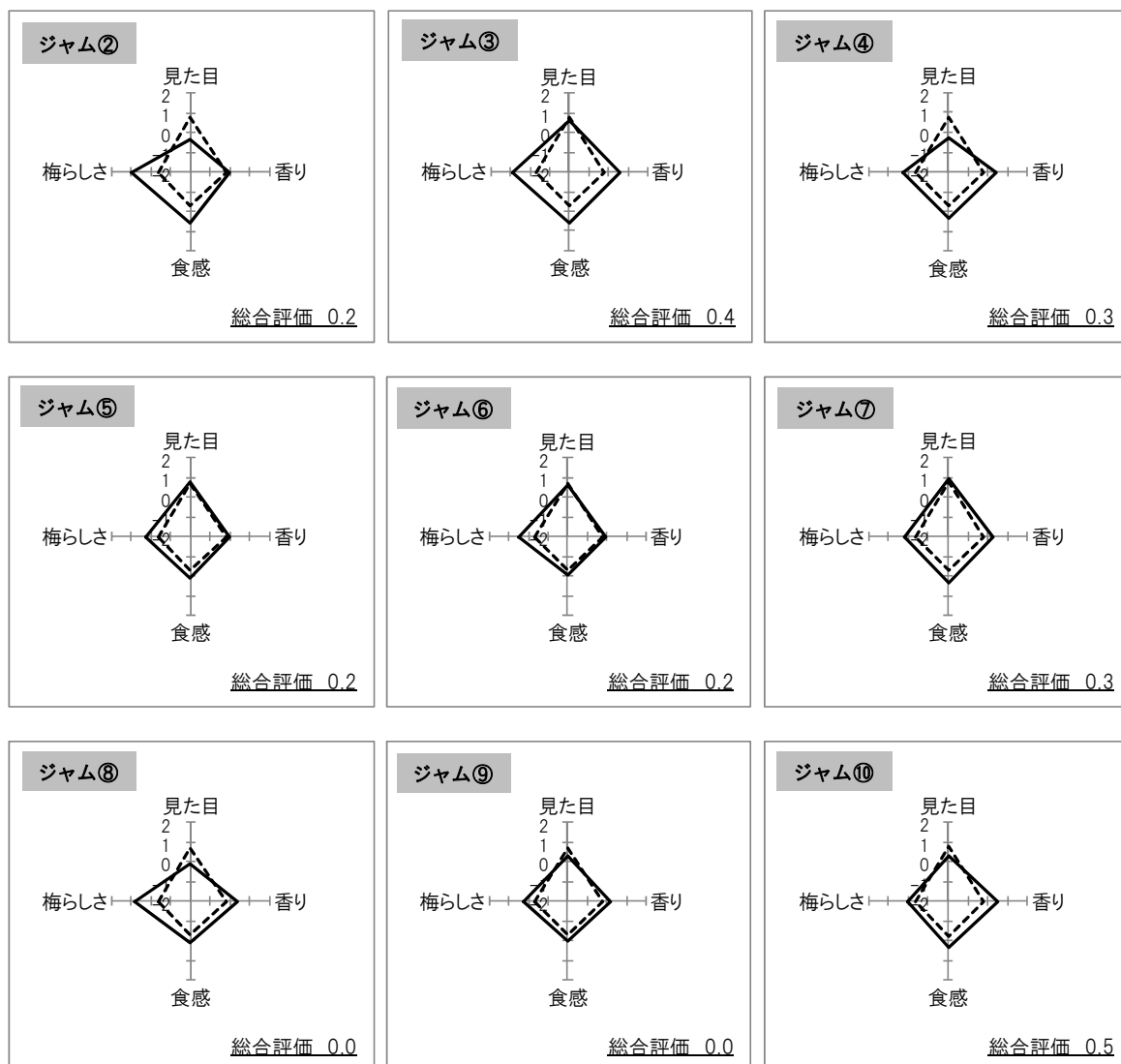


図 4. ジャムの官能評価

- ・表 1 の番号①~⑩に対応する
- ・各グラフ中の点線は露茜 100%ジャム (ジャム①) の結果を示し、実線および総合評価の得点は、ジャム②~⑩の結果を示す

また、ジャムの香気成分分析および官能評価の結果から、これらの品種をブレンドすることにより、香りと梅らしさに富んだジャムを作製できた。

特に、ジャムのゲル化を促進する目的では、「南高」青果と「翠香」が望ましく、香りを増強する目的では「南高」完熟果あるいは「翠香」が適すると考えられる。

以上より、「露茜」ジャムの調製に際して、「南高」、「翠香」をブレンドすることにより、鮮やかな赤色かつ十分にゲル化し、香りや味質に優れたジャムを調製できた。

5. 謝辞

本研究は、農林水産省による「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（課題番号 25097c）」のなかで実施した。

参考文献

- 1) 山口正己、八重垣英明、末貞佑子、土師岳、三宅正則、内田誠 園学研 2008, 7 (別1), p. 299.
- 2) 大江孝明、根来圭一、竹中正好、古屋挙幸、三谷隆彦、櫻井直樹 日食科工 2011, 第58回大会講演集, p. 67.

ガス化発電用バイオ燃料の開発に向けた基礎研究

(生活・環境産業部) 山際秀誠、中村允

要 旨

近年、エネルギー源の一つとしてバイオマスが注目されている。我々は、微細藻類の一種である *Euglena gracilis* に着目し、固形燃料としての評価を行った。従属栄養培養後、回収した菌体の凍結乾燥物に対し、総発熱量等の測定を行うことで、固形燃料としての評価を行った。この結果、*E. gracilis* の乾燥菌体の総発熱量は、15MJ/kg 以上であり、JIS 規格（下水汚泥固形燃料）としてより高品位の BSF-15 にランクされる品質であることが確認された。特に、ワックスエステルを含む *E. gracilis* においては、23.8 MJ/kg と国内炭の 22.5 MJ/kg に匹敵する値になり、固形燃料としての可能性を示すことができた。

1. 緒言

近年、新しいエネルギー源の一つとしてバイオマスが注目されている。特に、下水汚泥については石炭の 6～7割の発熱量を有しており、燃料としての価値が存在しているとされている。下水汚泥固形燃料の品質の安定化と信頼性の確立を図ることを目的に、平成 26 年 9 月に下水汚泥固形燃料に係る JIS 規格¹⁾が制定された(表 1)。また、下水汚泥の燃料利用技術として、汚泥を乾燥後に 800℃程度で加熱し、汚泥から水素や一酸化炭素などの可燃性ガスを取り出すガス化技術が開発されている。これまでに、下水処理場における実証試験が実施されており²⁾、下水汚泥の固形燃料としての利用が実用化の段階にさしかかっている。

一方、微細藻類についても、燃料としての利活用が進められているが、その多くは、微細藻類が生成する油分を軽油代替燃料やジェット燃料として利用する技術である。我々は、これまでの取り組みの中で、微細藻類の一種である *Euglena gracilis* の従属栄養培養に関する研究を行ってきた。*E. gracilis* はその体内にパラミロンと呼ばれる多糖類を形成すること、また、そのパラミロンは嫌気性条件下でワックスエステルに変換されることが知られており、我々の研究においても、パラミロンやワックスエステルを含有する *E. gracilis* を得ることができた。そこで、本研究では、パラミロンやワックスエステルを蓄えた *E. gracilis* の乾燥菌体が固形燃料として利用できるかの評価を行うことを目的とした。

2. 実験方法

2. 1 *E. gracilis* の従属栄養培養

E. gracilis は、国立環境研究所分譲株 (NIES-48) を用いた。従属栄養培地として、代表的な培地である Koren and Hutner 培地³⁾を用いて振とう培養を行った。

培養は、振とう機 (BR-40LF、タイテック (株) 社製) にて、180rpm・25℃・暗所条件下で行った。培養終了後、純水にて十分に洗浄し、凍結乾燥により、乾燥菌体を得た。

表 1. 下水汚泥固形燃料 JIS 規格の概要

種類	総発熱量 (MJ/kg) ^{a)}	全水分の質量分率 (%) ^{a)}	灰分・全硫黄・全窒素の質量分率 (%)
BSF-15	15 以上	20 以下	既定値は定め ないが到着 ベースの値を 報告する。
BSF	8 以上		

注 a) 到着ベース、すなわち受渡しの状態 (全水分含有の状態) における分析値のベース

2. 2 乾燥菌体試料

乾燥菌体試料として、パラミロンを含有する *E. gracilis* の従属栄養培養乾燥菌体 (Z-P) および従属栄養培養後に嫌気工程を経ることによってパラミロンをワックスエステルに変換した *E. gracilis* の乾燥菌体 (Z-W) を用いた。また、比較対象として、梅加工場排水処理設備の活性汚泥 (UME) および水産加工場排水処理設備の活性汚泥 (SUI) を凍結乾燥した乾燥汚泥も同様に評価した。

2. 3 総発熱量

島津燃研式自動ボンベ熱量計 (CA-4AJ、島津製作所 (株) 社製) により測定した。各試料は、測定前に温度 20℃、湿度 65% の恒温恒湿器中にて、48 時間以上静置した。

2. 4 炭素・水素・窒素・硫黄の含有量

元素分析装置 EuroEA3000(ジヤスコインターナショナル(株)社製)により測定した。

2. 5 全水分および灰分

全水分および灰分は JIS Z7312 (下水汚泥固形燃料)により測定した。

3. 結果と考察

4種類の乾燥菌体 (Z-P、Z-W、UME、SUI) について、それぞれ、総発熱量および水分率を測定し、結果を表2にまとめた。総発熱量は、15 MJ/kg 以上で、下水汚泥固形燃料の規格として、より高品位の BSF-15 にランクされる品質であることが確認された。特に、ワックスエステル含有の Z-W においては、23.8 MJ/kg と国内炭の 22.5 MJ/kg に匹敵する値になった。パラミロン含有の Z-P では、多糖類のパラミロン中には酸素が多く含まれているのに対し、ワックスエステル含有の Z-W では、酸素が外れているために、乾燥菌体あたりの総発熱量は Z-P < Z-W になった。

表2. 乾燥菌体の総発熱量と水分率

乾燥菌体種	総発熱量 (MJ/kg)	水分率 (%)
Z-P	17.8	14.7
Z-W	23.8	9.2
UME	15.1	16.5
SUI	16.1	15.6

また、それぞれの乾燥菌体における元素分析 (CHNS) の結果と灰分の測定結果を表3にまとめた。炭素含有率は Z-P および Z-W で、それぞれ 46.2 % および 55.4 % になった。これらの値は活性汚泥の UME および SUI の 39.3% よりも高くなっており、パラミロンやワックスエステルとして蓄えていることが炭素含有率を高めた要因であると推察された。水素、窒素および硫黄の含有率は、*E. gracilis* 由来のものとは活性汚泥由来のものとは有意差は認められなかった。

一方、灰分については、*E. gracilis* 由来の Z-P および Z-W では、1%程度であるのに対し、活性汚泥由

来の UME で 13.4 %、SUI で 16.5 % と高くなった。既往の研究では、食品系排水処理における活性汚泥中の灰分が 14ヶ所の平均で 18.5 % になったという報告例⁴⁾もあり、活性汚泥の灰分自体はおおよそ 10 % 以上であると推察される。これに比べて *E. gracilis* 由来の乾燥菌体では、灰分が 1%程度と非常に低く、固形燃料にした場合の優位点にもなり得ると推察された。

表3. 元素分析および灰分測定結果

乾燥菌体種	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	灰分 (%)
Z-P	46.2	6.9	3.4	0.17	1.2
Z-W	55.4	8.5	4.3	0.25	1.0
UME	39.3	6.0	6.5	0.81	13.4
SUI	39.3	5.9	7.2	0.91	16.5

4. まとめ

今回の実験において、*E. gracilis* 由来の乾燥菌体は、活性汚泥由来の物に比べて炭素量が多く、発熱量も高いことがわかった。特に、ワックスエステルを含む *E. gracilis* では、石炭と同等の発熱量が得られており、固形燃料としてのポテンシャルが高いことを示すことができた。また、灰分が 1%程度であり、活性汚泥の灰分などと比較すると、非常に低く、この点も、固形燃料としての有利点になるものと考えられる。

今後は、*E. gracilis* の培養手法について、培地の選定や培養効率の改善等を検討すると共に、経済性についても検討していく必要がある。

参考文献

- 1) JIS Z7312 下水汚泥固形燃料
- 2) 株式会社タクマ JEFMA 2010, 58, p. 68-70.
- 3) Koren, L. E. and Hunter, S. H., J. Protozool., 1967, 14(Suppl.) 17
- 4) 間世田春作、伊藤博雅、養輪迪夫、鹿児島県工業試験場年報, 1985, 31, p. 37-40

ユーグレナ由来多糖類の食品化に向けた基礎研究

(食品産業部) 山西妃早子、片桐実菜
(生活・環境産業部) 中村 允、山際秀誠

要 旨

ユーグレナ由来の多糖類パラミロンを用いた熱凝固性ゲルを作製し、その力学特性を調べた。その結果、加熱温度に従ってゲルの破断応力が大きくなることが分かった。また、同様の化学構造を有するカードランとは異なる特性を示すことが示唆された。

1. 緒言

多糖類の一種であるパラミロンはユーグレナ藻が体内に貯蔵する粒子状物質であり、直鎖型 β -1,3-グルカンの構造を有している(図1)。粒径は、1~5 μ m程度であり、6個のグルコースユニットで一巻きとなる三重らせん構造が密に折りたたまれているため、極めて高い結晶化度を持つことが知られている。一方、熱凝固性ゲルを形成するということから、新たな食品素材として応用が可能であると考えられている¹⁾⁻⁵⁾。しかしながら、そのゲル特性についての詳細は、ほとんど報告されていない。そこで、本研究では、パラミロンを用いた熱凝固性ゲルを作製し、それらの基礎特性を調べた。

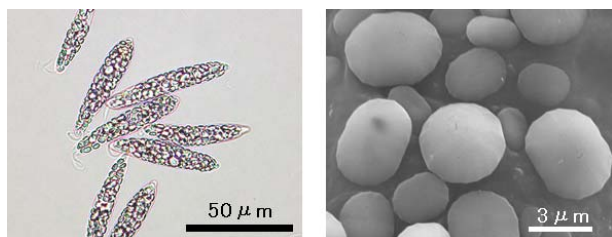


図1. ユーグレナ(左)とパラミロン(右)

2. 実験方法

2.1 パラミロンペーストの調製

パラミロン粉末を1N NaOH水溶液に溶解させた後、1N HCl水溶液を等量加え、中和することで水和したパラミロンを析出させた。これを遠心分離機で脱水し、水洗いを繰り返すことで、NaClを除去した。表1に示したとおり、溶解および中和の条件を変えることで膨潤度(遠心脱水後のペースト重量/パラミロン乾燥重量 \times 100)の異なる二種類のパラミロンペーストを作製した。膨潤度の高いペーストをLGペースト、低いペーストをTGペーストとした。

表1. パラミロンペーストの調製条件と膨潤度(重量比)

	LGペースト	TGペースト
パラミロン重量(g)	5 g	5 g
1N NaOH (mL)	250 mL	50 mL
1N HCl (mL)	250 mL	50 mL
遠心脱水(12,000G, 10min)後のペースト重量(g)	177 g	72 g
膨潤度(%)	35.4 %	14.4 %

2.2 パラミロンゲルの調製

それぞれのペーストをパラミロン濃度が3%になるように調製し、これを試験カップに5g入れ、湯浴中で加熱することでパラミロンゲル(LG、TG)を作製した。

2.3 ゲルの物性測定

得られた熱凝固性ゲルの破断応力は、レオメーター(CR-500DX、株式会社サン科学製)を用いて測定した。

3. 結果と考察

それぞれのペーストから得られたゲルに対して、破断応力の加熱温度依存性を調べた。また、パラミロンと同じ化学構造を持ち食品添加物として利用されているカードランゲル(CG)を比較物質として用いた。カードランゲルは、60 $^{\circ}$ C付近の低温加熱では、熱可逆ゲルを形成し90 $^{\circ}$ C以上の加熱によって、ゲル強度がより高い熱不可逆ゲルを形成することが知られている。この可逆ゲルから不可逆ゲルへの相転移は、図2に示したようにカードランゲル(CGゲル)の破断応力が90 $^{\circ}$ Cの加熱により、急激に上昇していることから推察できる。

一方、パラミロンゲルは、急激な破断応力の変化は認められず、加熱温度の上昇に伴い、ほぼ直線的に強度が増加することが分かった。また、低温領域でも熱可逆性は認められないことから、カードランゲルとは異なる特性を持つことが示唆された。一方、LGゲルとTGゲルを比較すると、破断応力の違いは明

らかであり、ペーストの調製条件が、得られるゲルの強度に大きな影響を与えることが分かった。

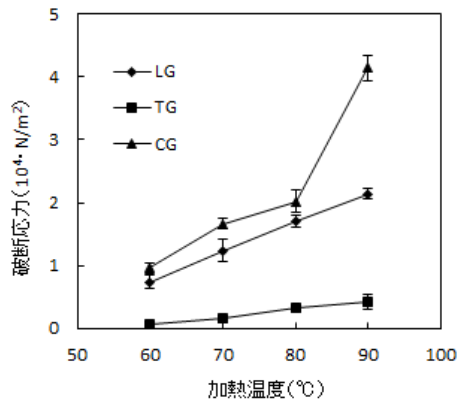


図2. ゲル破断応力の温度依存性

4. まとめ

一般にゲルの特性は、高分子の網目構造に依存している。パラミロンとカードランゲルとの違い、またペーストの種類による破断応力の違いは、ゲルの内部構造を明らかにすることで推察できると考えられる。これらについては今後の検討課題である。

参考文献

- 1) 中尾行宏、戸田準、寺崎衛 調理科学 1989, 22(3), p. 164-172.
- 2) 久下喬、末次信行、西山浩二 京都府立大学学術報告 代31号, p. 170-174.
- 3) 渡辺純子、澤山茂、川端晶子 日本調理科学会誌 1995, 28(2), p. 84-90.
- 4) 土師晃ほか、特開平5-295003.
- 5) 土師晃ほか、特許2571729.

新再織生地の開発

モール糸形態の客観評価技術

(生活・環境産業部) 宮本昌幸、解野誠司、大萩成男

要 旨

再織生地に用いられるモール糸の形態を客観的に評価する技術について報告する。モール糸側面の透過撮影像から得られた二値画像について、モール糸が占める領域に対する画像解析法を検討し、非対称性パラメータと不均一性パラメータを新たに定義した。これらの二つのパラメータはモール糸の形態を評価する指標として有用であることを明らかにした。

1. 緒言

再織生地を形成するモール糸の形態を客観的に評価することが可能となれば、製織時に欠陥モール糸を除外することが容易となり、再織生地の品質が向上する。本報では、モール糸の側面形状から画像解析法を利用したモール糸形態の客観評価技術について報告する。

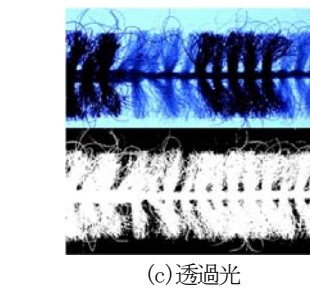
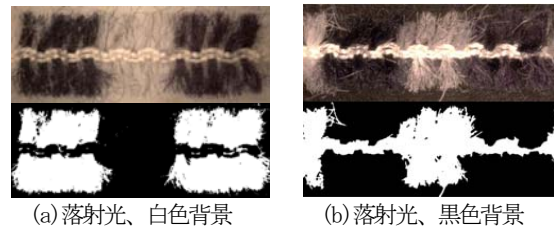


図1 モール糸Aの拡大像と二値化像

2. 実験方法

実験には、形態上の特徴を有する3種のモール糸(A、B、C)を用いた。

モール糸の撮影および得られた画像の解析作業において、使用した機材は表1のとおりである。モール糸を2枚のスライドガラスで挟み込み観察試料とした。

表1 使用機材等

機器等	機種・メーカー等
光学顕微鏡	VHX-1000 (Keyence)
画像解析ソフト	Image-Pro PLUS Ver. 6.3 (Media Cybernetics)

3. 結果と考察

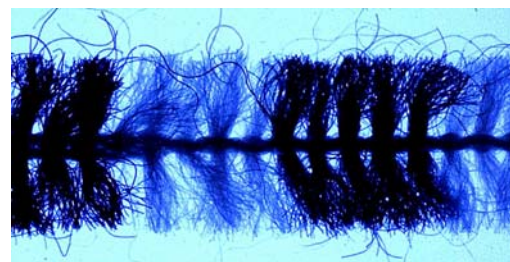
3.1 画像取得時の照明方法の検討

落射光および透過光を用いてモール糸Aを撮影したものを図1に示す。落射光像は、画像の形状を抽出するために二値化を行うと背景と同色の糸の形状抽出が困難である。一方、透過光像は、糸の影が投影されるため糸の色の影響を受けにくく、モール糸の形状抽出がより容易であった。従って、画像取得時の照明方法として透過光を選択した。

3.2 画像処理によるモール糸の判定

図2は、モール糸の芯糸が画像の中心線となるように得た、モール糸の拡大像である。

拡大像の画像から、画像の背景と対象物を分離し、繊維の形状を示す二値画像を作成したものを図3に示す。図3の点線で示されている画像の中心線を境界として白色領域を上下に分割することができる。



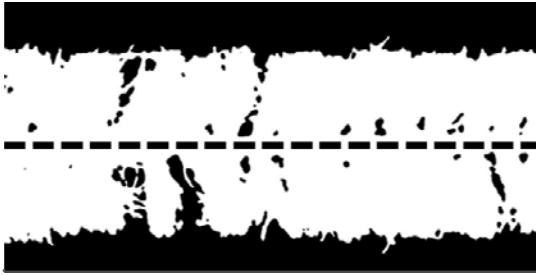
(a) モール糸A



(b) モール糸B

図2 モール糸の拡大像

この分割した白色領域の面積である W_U (上部) と W_L (下部) を比較することで、モール糸の形状判定基準にすることができると考えた。



(a) モール糸A

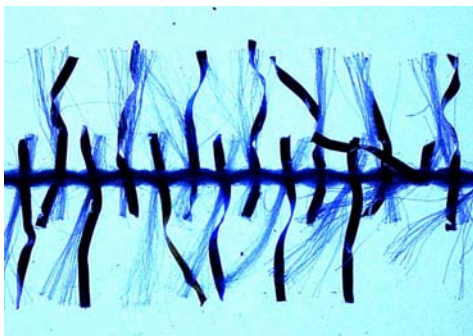


(b) モール糸B

図3 モール糸の二値画像 (ノイズ除去後)

式1により、非対称性パラメータ P_1 を定義すれば、モール糸Aは $P_1=0.093$ 、モール糸Bは $P_1=0.979$ と評価される。

$$P_1 = |1 - (W_U / W_D)| \quad (式1)$$



(a) 拡大像

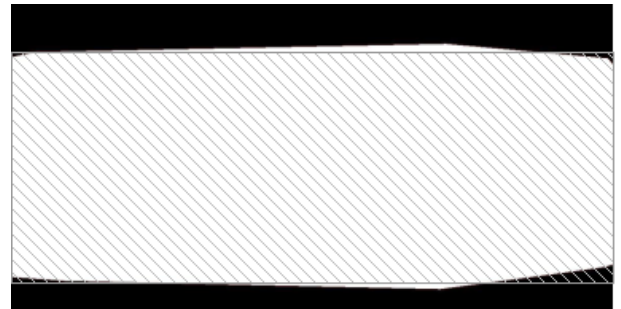


(b) 二値画像

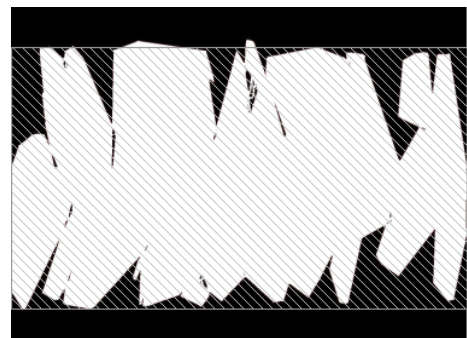
図4 モール糸C

切断時は非対称でありながら、芯糸のトルク等の影響によりモール糸C (図4) のようなパイル形態を示すモール糸の場合、 $P_1=0.106$ となる。このような形態のモール糸には、他のパラメータによる評価が求められる。

モール糸Aおよびモール糸Cの二値画像について、白色領域をその包絡線で囲む処理を行った。図5には、その領域 (A_{CV}) を白色オブジェクトで示した。また、図5にて斜線で表した矩形領域 (A_{RC}) は、短辺を下織生地のため糸間距離より規定し、長辺を拡大画像上の芯糸の長さより規定したオブジェクトである。



(a) モール糸A



(b) モール糸C

図5 包絡線に囲まれた領域及び矩形領域

式2により、不均一性パラメータ P_2 を定義すれば、モール糸Aは $P_2=0.085$ 、モール糸Cは $P_2=0.191$ となる。

$$P_2 = |A_{CV} - A_{RC}| / A_{RC} \quad (式2)$$

以上より、 P_1 および P_2 がともに0に近い値を示す場合、対象とするモール糸はより製織に適したパイル形態が対称かつ均一であることを示唆するものである。

4. まとめ

モール糸の形態を評価するパラメータとして非対称性パラメータと不均一性パラメータを定義した。本パラメータは、モール糸の良好及び不良を評価する指標として有用であることを明らかにした。

二相系マイクロリアクターを利用した芳香族求核置換反応

(化学産業部) 森 一、土谷 茜、森 めぐみ、多中 良栄

マイクロリアクターを活用した芳香族求核置換反応として、ハロベンゼン類からエトキシベンゼン類の合成を検討した。反応は水-有機溶媒の二相系で実施した。マイクロフロー系の条件では水-有機溶媒の安定したスラグ流を観察することができた。反応条件として、チューブ内径、流速、温度等を検討した結果、80%以上の収率で目的物を得ることができた。本稿では二相系の流れ制御条件および反応の最適化について詳細に報告する。

1. 緒言

マイクロリアクターは1 mm以下の空間を利用した反応装置で、従来のガラスやステンレス等の大型の反応装置と比べて、(1)高速混合、(2)精密温度制御、(3)精密反応時間制御、(4)高い安全性などの利点を有している。これまでに有機合成反応において多くの検討がなされ、従来法では実現できなかった高選択的な反応も実現されている¹⁾。当センターでもこれまでに均一系の有機合成反応の検討をすすめ、幾つかの興味深い事例を見出している。²⁾今回、より複雑な系として水と有機溶媒からなる二相系でのマイクロリアクター反応の検討を行った。具体的には芳香族求核置換反応として、ハロベンゼン類へのエタノールの求核置換反応を検討した。一般的に上記反応は高沸点の極性溶媒中で塩基存在下に反応が行われるが、高価な極性溶媒の使用や溶媒と生成物の分離が困難などの課題が残されている。この課題解決において、安価な非極性有機溶媒と水との二相系での反応が期待されている。本報告では高速混合の特性を活かしたマイクロリアクターによる二相系反応の検討結果について報告する。

2. 実験方法

マイクロフロー系での二相の混合状態の確認のため、まずトルエン/水系での混合状態の確認を行った。溶液のフローにはHamilton社製シリンジポンプを用い、混合部はHPLC用のPTFE製3方ジョイント(GLサイエンス社)、配管はすべて内径1 mm以下のテフロンチューブを用いた(図1)。

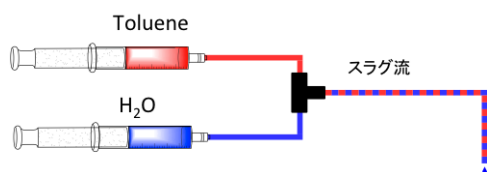


図1 二相でのフロー系の検討

反応は、基質として4-フルオロ-ニトロベンゼンおよび1-ブromo-2,4-ジニトロベンゼンを選択し、エタノールとの求核置換反応を検討した。比較のため常法であるトルエン(基質+相関移動触媒:テトラブチルアンモニウムブロミド)/水系(30%エタノール/2N NaOH aq.)の二相系バッチ反応も行った。マイクロフロー系反応では、0.2Mの反応基質および0.05Mのテトラブチルアンモニウムブロミドを含むトルエン相と、30%のエタノールを含む2N NaOH水溶液の水相を、それぞれのシリンジポンプから送液し、PTFE製3方ジョイント(上述)で混合させることで反応を行った。反応温度のコントロールはPTFEチューブを一定温度に保ったウォーターバスに浸漬することで行った。

表1 チューブ径、流速の違いによるスラグ流の変化

チューブ内径 (0.25mm)				チューブ内径 (0.75mm)			
Toluene (mL/h)	H ₂ O (mL/h)			Toluene (mL/h)	H ₂ O (mL/h)		
	1	3	5		1	5	10
1	20mm	66mm*	80mm*	1	5mm	17mm	27mm
	20mm	13mm	11mm		5mm	3mm	3mm
3	17mm*	20mm	25mm	5	1mm	2mm	3mm
	23mm	20mm	17mm		7mm	2mm	2mm
5	15mm	15mm	1mm*	10	1mm	1.5mm	2mm
	27mm	17mm	1mm		15mm	3mm	2mm

表の上段:水相のスラグ長
表の下段:トルエン相のスラグ長
*:スラグ流が不安定

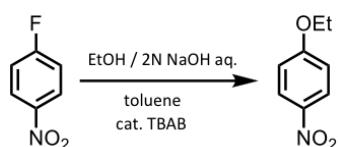
3. 結果と考察

二相の混相流として、二相が上下二相に分かれて流れる層流、二相が交互の液滴として流れるスラグ流、二相が非常によく混合されたエマルジョン状態などの例が報告されている。³⁾

今回の検討結果では、いずれの場合もスラグ流の状態が観察された。スラグ流はバッチ混合と比べて界面の接触面積が増大するだけでなく、それぞれの液相内に循環流が生じていることから、液相界面での混合促進効果が期待される。表1はチューブ径、流速の違いによるスラグ流の様子をまとめたものである。検討の結果、比較的内径の大きい0.75 mmのチューブを用い

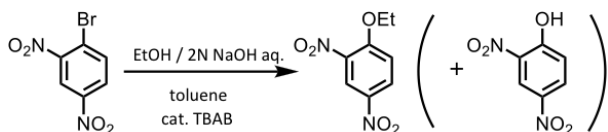
た際にミリメートルオーダーのラグ長で安定した流れが確認できた。また2液の送液スピードに応じてラグ長も変化する傾向にあった。一方、内径が小さい場合(0.25 mm)にはラグ長が長く、安定したラグ流が得られにくい傾向にあった。

次に比較のためバッチ反応での芳香族求核置換反応について検討した。4-フルオロニトロベンゼンを基質に用いた場合には、60°Cでの反応で4時間後には原料が消失し、ほぼ目的物が得られていた(収率>99%)



スキーム1 モノニトロベンゼン系での反応

(スキーム1)。一方、1-ブromo-2,4-ジニトロベンゼンの場合にはさらに反応が進みやすく40°Cの反応で30分後には目的物が80%の収率で得られた。ただこの際副生成物として2,4-ジニトロフェノールが10%程度生成していた(スキーム2)。



スキーム2 ジニトロベンゼン系での反応

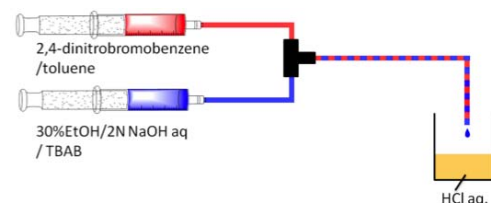
表2 モノニトロベンゼン誘導体のマイクロフロー系での検討結果

Diameter [mm]	Temperature [°C]	Flow rate [mL/h]	Yield (Conv.) [%]
0.25	60	0.5	17
		2	5
	80	0.5	29
		2	10
0.75	60	0.5	80
		2	26
	80	0.5	96
		2	31

続いてマイクロフロー条件での芳香族求核置換反応の検討を行った。4-フルオロニトロベンゼンを基質に用いた場合の結果を表2に示す。

内径0.25 mmのチューブを用いた場合には、反応温度、流速等を変化させても目的物の収率は30%以下であった。一方0.75 mmのチューブの場合には流速が遅い場合(0.5 mL/h)に良好な収率で目的物が得られ、特に80°Cで反応を行った際にはほぼ定量的に目的物が得

表3 ジニトロベンゼン誘導体のマイクロフロー系での検討結果



Diameter [mm]	Temperature [°C]	Flow rate [ml/h]	Yield [%]	Yield(by-product) [%]
0.25	40	2	52	2
		5	29	1
	60	2	76	11
		5	60	6
0.75	40	5	67	4
		10	49	2
	60	5	80	15
		10	69	9

られた。0.75 mmの場合にはラグ流状態が安定するとともに、0.25 mmと比べてある程度滞留時間が稼げるために良い収率で目的物が得られたものと考えている。

1-ブromo-2,4-ジニトロベンゼンを基質に用いた場合の結果を表3に示す。上記の4-フルオロニトロベンゼンと同様に0.25 mmチューブの場合には流れが不安定であったが、0.75 mmチューブを用いた際にはラグ流も安定し良好な結果が得られた。反応が比較的速いため流速を5 mL/h程度まで上げて問題なく目的物が得られた。特に40°Cの条件では原料は一部残るものの副生成物である2,4-ジニトロフェノールの生成が低減された結果を得ることができた。

滞留時間を考慮すると上記の2例の結果はいずれもバッチ系での反応と比べ2倍程度の反応速度の向上を実現している。

4. まとめ

二相系での芳香族求核置換反応に対して、マイクロリアクターを用いたプロセスを検討した結果、流路内径が0.75 mmの場合に混相流の流れ、目的物の収率とも良好な結果が得られた。今後はさらに効率的な反応を実現するため、混合状態の検討や高温高圧での反応を実施していく予定である。

1) a) Protasova, L.N., Bulut, M., Ormerod, D., Buekenhoudt, A., Berton, J., Stevens, C. V., *Org. Process. Res. Dev.*, **2013**, *17*, 760. b) Mason, B. P.; Price, K.E., Steinbacher, J. L., Bogdan, A. R., McQuade, D. T., *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 2300.

2) 和歌山県工業技術センター 平成25年度研究報告

3) a) 青田 新, 多相系マイクロ流体の基盤技術と化学プロセスへの応用, *分析化学*, **2014**, *63*, 299. b) c) Jovanovic J., Rebrov, E. V., Nijhuis, T. A., Hessl, V., and Schouten, J. C., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2010**, *49*, 2681. d) Shui, L., Eikel, J. C. T., Berg, A.V.D., *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2007**, *133*, 35.

微量ナトリウムおよび鉄の濃縮法の開発

(化学産業部) 松本明弘、多中良栄、大崎秀介、木村美和子、東裏典枝

要 旨

微量のナトリウムや鉄を選択的に分離する樹脂を用いて、有機材料中のナトリウムや鉄を固相抽出し、原子吸光分析法および ICP 発光分光分析法により簡易かつ迅速な分析を行う手法を開発した。

1. 緒言

電子工業用の有機材料は、世界規模で環境規制が強化されている RoHS 指令 (Restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipment) の特定有害物質 6 項目 {水銀、カドミウム、鉛、六価クロム、ポリ臭化ビフェニール (PBB)、ポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDE)} を含有していないことや、ナトリウムや鉄などの微量金属不純物が少ないこと、つまり、安全かつ純度の高い製品として高付加価値化し、国内外の企業と競争するために、原料の選択及び材料の開発や製造から廃棄に至るまで品質管理されている。特に、ナトリウムや鉄は絶縁不良や動作不良を生じさせる元素として知られており、厳しい品質管理が行われている。ナトリウムや鉄を分析するには、原子吸光分析装置、誘導結合プラズマ (ICP) 発光分光分析装置や ICP 質量分析装置が用いられており、試料を溶液化する前処理操作が必要となる。この時、ナトリウムや鉄は雰囲気由来の汚染を受けやすく、操作や試験環境による影響で低濃度域の定量は困難な場合が多くなる。特に、低濃度のナトリウムを容易に濃縮する方法がほとんどないために、有機材料中のナトリウムの定量下限を下げるできない原因となっている。

そこで、今回、ナトリウムや鉄を選択的に分離する樹脂を用いて、有機材料中のナトリウムや鉄を固相抽出し、原子吸光分析法および ICP 発光分光分析法により簡易かつ迅速な分析を行う手法を検討した。

2. 実験方法

2. 1 試薬と測定装置

ナトリウム：固相抽出用の樹脂には分子認識技術を導入している MetaSEP AnaLig® AM-01 300 mg および陽イオン除去用 MetaSEP IC-MC 280 mg (GL サイエンス製) を用いた。コンディショニングには超純水 (メルクミリポア製 Milli-Q® Advantage A10®により製造)、0.1M カルシウム硝酸溶液として高純度試薬炭酸カルシウム (関東化学製) に 2M 硝酸 (関東化学製 Ultrapur 100) を加えて調製したものをを用いた。溶出

液には 2M 硝酸を用いた。測定にはフレイム原子吸光分析装置 (サーモフィッシャーサイエンティフィック製 SOLAAR M6) を用いた。

鉄：固相抽出用の樹脂には、3M エムポアディスクカートリッジキレートを用いた。コンディショニングには、超純水、2M 硝酸、酢酸アンモニウム溶液 (GL サイエンス製) を用いた。測定には ICP 発光分光分析装置 (堀場製作所製 Ultima 2) を用いた。

ナトリウムおよび鉄の標準溶液は、和光純薬製 1000 mg/L 標準液を超純水で希釈して調製した。

コンディショニングおよび有機材料を溶かす溶媒にはアセトン、メタノール、N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) (以上すべて和光純薬製 RoHS 用) およびアセトニトリル (関東化学製) を使用した。

2. 2 固相抽出法

2. 2. 1 ナトリウム

MetaSEP AnaLig® AM-01 : 0.1M カルシウム硝酸溶液、1M 硝酸、超純水の順で樹脂のコンディショニングを行った後、ナトリウムを含む試料溶液を通液し、ナトリウムを AM-01 に保持させた。樹脂を超純水、1M 硝酸の順で洗浄し、0.1M カルシウム硝酸溶液でナトリウムを溶出した。

MetaSEP IC-MC : 超純水、0.1M 硝酸、超純水の順で樹脂のコンディショニングを行った後、ナトリウムを含む試料溶液を通液し、ナトリウムを IC-MC に保持させた。樹脂を超純水で洗浄し、2M 硝酸溶液でナトリウムを溶出した。

2. 2. 2 鉄

カートリッジキレート : 2M 硝酸、超純水、100 mM 酢酸アンモニウム、アセトンの順で樹脂のコンディショニングを行った後、鉄を含む試料アセトン溶液を通液し、鉄を樹脂に保持させた。樹脂をアセトン、超純水で洗浄し、2M 硝酸溶液で鉄を溶出した。

3. 結果と考察

3. 1 ナトリウムの濃縮法

3. 1. 1 濃縮法の最適化

MetaSEP AnaLig® AM-01 : 0.1M カルシウム硝酸溶液

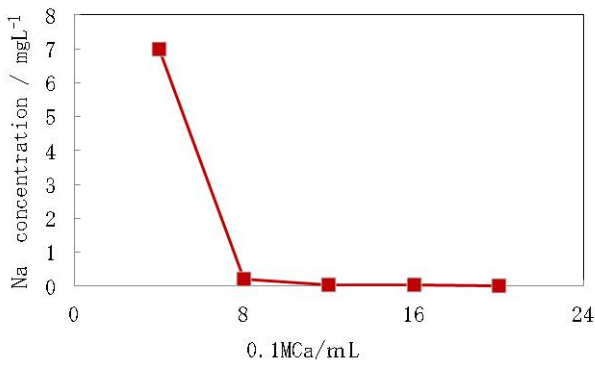


図1. 0.1Mカルシウム硝酸溶液量の最適化

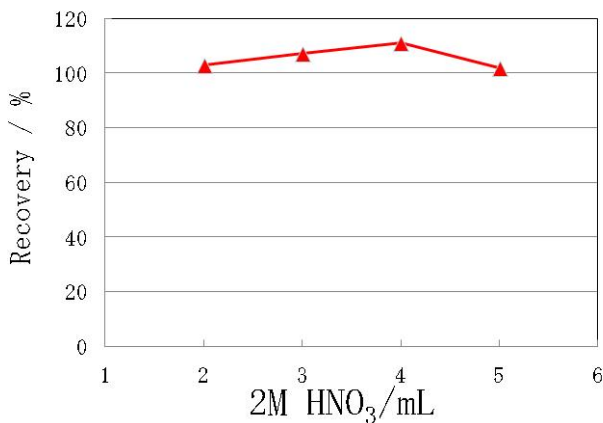


図2. 溶出液量の最適化

を通過させることにより、樹脂に保持されている元素を洗浄することができる。この溶液の量を最適化した。その結果を図1に示す。通液した液を回収し、原子吸光分析装置で測定するとナトリウムが検出された。樹脂中にナトリウムが存在することがわかったため、ナトリウムが検出されなくなるまでの洗浄量を検討した結果、16 mL 以上の 0.1M カルシウム硝酸溶液が必要であることが判明した。0.1M カルシウム硝酸溶液の最適量は 20 mL とした。次に、8 mL の超純水で洗浄した後、0.05 mg/L のナトリウム標準液 20 mL を通液した。通液させた 20 mL を回収し、その溶液中のナトリウムを測定することにより、樹脂のナトリウムの保持率を求めた。樹脂上に保持されたナトリウムを、さらに、1M 硝酸 4 mL を通液させ樹脂を洗浄した。最後に、溶出液としての 0.1M カルシウム硝酸溶液の量を最適化した結果、4 mL が最適であった。通過液および溶出液中のナトリウムを原子吸光分析装置により定量した結果、試料中ナトリウムの 40% が樹脂に保持されずに通過すること、保持された残り 60% すべてのナトリウムが溶出されることがわかった。この結果より、MetaSEP AnaLig® AM-01 はナトリウムを濃縮するが、回収率が 60% であったため有機材料中のナトリウムの抽出試験は行わなかった。

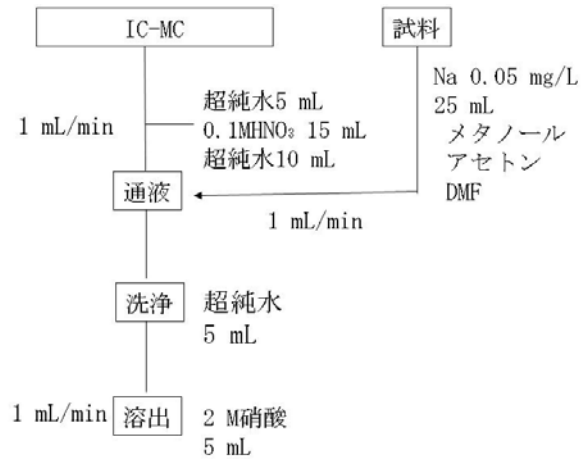


図3. ナトリウムの濃縮操作フロー

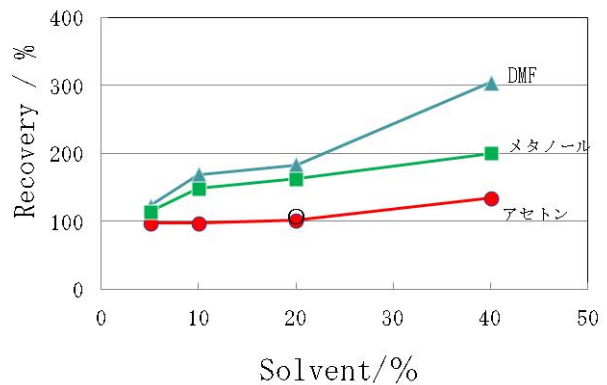


図4. 有機溶媒の最適化とナトリウムの回収率

MetaSEP IC-MC : 超純水および 0.1M 硝酸溶液を通過させることにより、樹脂に保持されている元素を洗浄することができる。これらの溶液の量を最適化した。その結果を図2に示す。通液した液を回収し、原子吸光分析装置で測定すると樹脂中にナトリウムが存在することがわかったため、ナトリウムが検出されなくなるまでの洗浄量を検討した結果、超純水 5 mL および 0.1M 硝酸溶液 15 mL 以上が必要であることが判明した。洗浄液の最適量は超純水 5 mL および 0.1M 硝酸溶液 15 mL とした。次に、10 mL の超純水で洗浄した後、0.05 mg/L のナトリウム標準液 25 mL を通液した。通液させた 25 mL を回収し、その溶液中のナトリウムを測定することにより、樹脂のナトリウムの保持率を求めた。その結果、回収液からはナトリウムは検出されず、ナトリウムの樹脂への保持率が 100% であることが分かった。樹脂上に保持されたナトリウムを、さらに、超純水 5 mL を通液させ樹脂を洗浄した。最後に、溶出液としての 2M 硝酸溶液の量を最適化した。その結果を図2に示す。その結果、2~5 mL の溶出液すべてで回収率が 100% 以上となった。つまり、MetaSEP IC-MC を用いるとナトリウムを 5~12.5 倍に濃縮できることが判明した。この樹脂を用いて、有

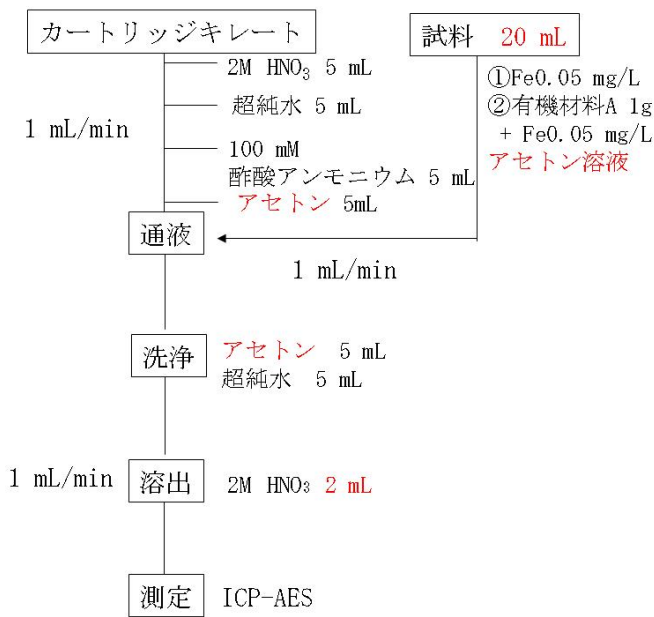


図5. 鉄の濃縮操作フロー

機材料中のナトリウムを定量することにした。

3. 1. 2 有機材料中のナトリウムの定量

今回使用した有機材料は水に不溶であるため、試料を溶解できるメタノール、アセトン、DMF より最適な有機溶媒を選択することにした。まず、試料として、0.05 mg/L のナトリウムを含む各有機溶媒が5~40% 含むような溶液 25 mL を調製し、ナトリウムの回収率を確認した。図3に3. 1. 1 で最適化した操作フローを示す。また、その結果を図4に示す。この結果より、3種すべての溶媒が5%の場合、ナトリウムの回収率はほぼ100%であった。しかし、メタノールおよびDMFを10%以上含む場合、回収率が150%から最大300%に大幅に増加した。これは、メタノールおよびDMFにより樹脂の劣化または樹脂ホルダー部（ポリエチレン製）の溶解によりナトリウムが新たに溶出したものと考えられる。一方、アセトンの場合は5~20%の濃度の範囲においてナトリウムの回収率はほぼ100%を維持し、40%で回収率134%であった。以上の結果から、アセトンが最適な溶媒と判断し、その濃度は20%とした。

有機材料1gを正確に採取し、アセトン5mLを加え溶解し、25 mLのメスフラスコに移し、さらにナトリウムが0.05 mg/L含む溶液となるように調製した。この溶液を試料とし、図3のとおり、ナトリウムの濃縮試験を行った。その結果、ナトリウムの回収率は、106%（図4のアセトン20%○）となり、本法の有用性を証明することができた。また、アセトン100%の

試料溶液を調製し、同様の試験を行った結果、ナトリウムの回収率は135%となり、図4のアセトン40%の場合と同じになることが判明した。IC-MCがアセトンに対して耐久性があり、ナトリウムの濃縮に有用であることも判明した。

3. 2 鉄の濃縮法

3. 2. 1 有機材料A中の鉄の定量

カートリッジキレートは環境水中の重金属分離濃縮でよく使用されているため、基本フローは確立されているが、有機溶媒中に含まれる鉄の分離濃縮を行う場合は検討が必要となる。今回は、3. 1. 2と同様に、有機材料Aおよびアセトンを使用して鉄の濃縮法を検討した。試料溶液には、①0.05 mg/Lの鉄標準アセトン溶液と②有機材料Aを1gを溶解した0.05 mg/Lの鉄標準アセトン溶液を用いた。その操作フローを図5に示す。溶出には2M硝酸2 mLを用いた。その溶出液中の鉄をICP発光分析装置で測定した結果、①及び②ともに回収率が92%となった。この結果より、使用したカートリッジキレートはアセトン中に含まれる鉄を10倍濃縮できること、有機材料中に含まれる鉄の分離濃縮に適用できることが判明し、本法の有用性を証明することができた。

4. まとめ

ナトリウムや鉄を選択的に分離濃縮する樹脂を検討した結果、溶液換算で、ナトリウムの場合は陽イオン除去用MetaSEP IC-MCを用いることにより5~12.5倍に濃縮、鉄の場合は3Mエムポアディスクカートリッジキレートを用いることにより4~10倍に濃縮可能であることがわかった。また、有機材料をアセトンに溶解し、ナトリウムや鉄用の樹脂を用いて固相抽出することにより、各元素を濃縮分離に適用できることを証明した。本法を用いることにより、より簡易かつ迅速な分析を行うことができる。

高野槇精油芳香剤開発のための基礎研究

(薬事産業部) 則藤真理子、石井光代、堀内達司、橋爪 崇

要 旨

高野槇から抽出した精油「高野槇精油」を、汎用性の高い芳香スプレー製品とするための処方を検討した。さらに、今後の製品開発に役立てるため、決定した処方に基づいて試作した高野槇スプレーについて、香り成分の分析法の検討を行った。結果、高野槇スプレーの処方は、高野槇精油 3%を 50%エタノール水溶液に溶解する処方に決定した。また、高野槇スプレーに特徴的な香りについては、デシケーター内に噴霧した気相中の揮発成分を Twister に捕集し、匂いかぎ付きガスクロマトグラフィーで分析することにより検出できることが確認できた。

1. 緒言

高野槇は、高野山を中心に供花として利用されており、高野槇に関連した製品は高野山の名産として需要がある。現在、地元企業は高野槇から抽出した精油（高野槇精油）をお風呂での芳香用やアロマオイルとして販売しているが、さらに手軽に使用できる商品として、この精油を含んだ芳香スプレー剤の開発を望んでいる。

本研究では、高野槇精油を含んだ芳香スプレーを開発するとともに、今後の製品開発ニーズに対応する基盤とするため、乳化剤などの種類や使用量が製品の品質に与える影響及び最終製品の香り成分の分析法等を検討した。

2. 実験方法

2. 1 芳香スプレーの処方

(1) 類似製品のエタノール含有量測定

類似した芳香スプレー製品 11 種類について、以下の条件でガスクロマトグラフィー（以下、GC）によりエタノール含有量の測定を行った。

GC条件：装置；アジレントテクノロジー7890A、検出器；FID、カラム；Gaskuropak54（3mm ID×3.0m）、注入口温度；220℃、カラム温度；120℃、検出器温度；240℃、キャリアーガス；ヘリウム、注入量1.0μL

(2) 高野槇精油の溶解度調査

高野槇精油 100μL を 10、30、50、60、70、80、90%エタノール水溶液 10mL にそれぞれ添加し、高野槇精油の溶解度を調査した。

(3) 高野槇精油含有量の嗜好調査

10%エタノール水溶液 10mL に、高野槇精油 100、200、300、400、500、1000μL を溶解した高野槇スプレーを試作し、30 人に対しよく振った後スプレーしてもらい、好みの高野槇精油含有量を調査した。

(4) 界面活性剤の検討

ノンアルコール製剤とする検討のため、11 種類（ポリソルベート 20、Tween 80、レシチン・大豆由来、36%ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸トリエタノールアミン溶液、ポリオキシエチレン(10)硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレン(7)オレイルエーテル、ポリオキシエチレン(15)ノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレン(2)ノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレン(20)セチルエーテル、ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル、カルボキシメチルセルロースナトリウム)の界面活性剤について、高野槇精油 3%、界面活性剤 10%、水 87%の割合で混合した。さらに、分離せず乳化できたものについて、界面活性剤の量を 1～10%の範囲で変更し、乳化できる最小濃度を検討した。

(5) エタノール濃度の違いが香りに及ぼす影響の調査

外観、使用感の点で、界面活性剤より水-エタノール系が好ましいということになった。また、エタノール濃度により、香りの広がり異なることから、高野槇精油 300μL を 80%、50%、10%エタノール水溶液 10mL に溶解した 3 種の高野槇スプレーを試作し、30 人に対しよく振った後スプレーしてもらい、香りの強く感じる順に順位付けを行った。香りの強い順に 1 位 3 点、2 位 2 点、3 位 1 点と点数化し、エタノール濃度の違いが香りに及ぼす影響を調査した。

2. 2 安定性試験

(1) 抗菌性試験

試験菌を接種した寒天培地上に、試料 50μg をしみこませたペーパーディスクを設置し、真菌は 25℃、細菌は 35℃で 24 時間培養した。なお、試験菌には以下のものを用い、対照としては、抗菌性があることが知られている青森ヒバ精油を用いた。

真菌：Aspergillus brasiliensis（黒カビの一種）

Penicillium citrinum (青カビの一種)
 細菌: *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)
Escherichia coli (大腸菌)

(2) 生菌数試験

決定した処方が高野槇スプレーを試作し、試作時、および25℃又は35℃で1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月保存後の細菌、真菌について日本薬局方・一般試験法4.05 微生物限度試験法に準じる方法により検査した。

2. 3 香りの分析法

(1) 高野槇精油の成分

高野槇精油について、以下の条件でGC-FID、GC-MSにより分析し、成分の同定および定量を行った。

GC-FID 条件: 装置; アジレントテクノロジー 6890N、検出器; FID、カラム; HP-5 (0.32mm ID×30m 膜厚 0.25 μm)、注入口温度; 250℃、カラム温度; 40℃ (5分) → 5℃/min → 240℃、検出器温度; 300℃、キャリアーガス; ヘリウム、注入量 1.0 μL

GC-MS 条件: 装置; アジレントテクノロジー 7683JEOL、検出器; MS、カラム; DB-5MS (0.25mm ID×30m 膜厚 0.25 μm)、注入口温度; 250℃、カラム温度; 40℃ (5分) → 5℃/min → 240℃、キャリアーガス; ヘリウム、注入量 1.0 μL

(2) 香り成分の検出

高野槇精油および高野槇スプレー液をそれぞれ20mL ガラス製バイアルに入れ、ヘッドスペース部にSPME ファイバー (DVB/CAR/PDMS、膜厚50/30 μm、SUPELCO製) を挿入して室温で20分間保持する固相マイクロ抽出法 (SPME法) により抽出し、匂いかぎ付きGC-MS (GC-MS/GC-0) にて以下の条件で測定した。また、高野槇スプレーをデシケーター内に1回、2回、3回と噴霧回数を変えて噴霧し、設置したTwister (PDMS、長さ1cm 膜厚500 μm、GERSTEL製) に成分を抽出し、GC-MSで分析した。さらに最適な噴霧量で抽出時間を変えて抽出し、香り成分の抽出量の時間変化を比較した。

GC-MS 条件: 装置; アジレントテクノロジー 7890A、検出器; MS、カラム; DB-WAX (0.25mm ID×30m 膜厚0.25 μm)、注入口温度; 250℃、カラム温度; 40℃ (5分) → 5℃/min → 220℃ (6分)、キャリアーガス; ヘリウム

3. 結果と考察

3. 1 芳香スプレー剤処方

(1) 類似製品のエタノール含有量調査

類似した芳香スプレー11種類について、エタノール含有量の測定を行った結果、表1のとおりとなった。

80%以上の製品もあったが、多くは10%未満であった。

表1. 類似製品のエタノール含有量

検体名	品名	エタノール (v/v%)
A	アロマスプレー (携帯用)	85.9
B	アロマスプレー (携帯用)	87.0
C	アロマスプレー (携帯用)	65.0
D	消臭除菌剤	0.001 未満
E	空間・衣類・布用芳香消臭剤	7.9
F	衣類・布製品・空間用消臭剤	7.9
G	衣類・布製品用消臭剤	4.1
H	衣類・布製品用消臭剤	4.1
I	芳香剤	0.001 未満
J	消臭剤	2.9
K	衣類・布製品用芳香剤	12.2

(2) 高野槇精油の溶解度調査

高野槇精油 100 μL を完全に溶解するには、70%以上のエタノール水溶液が必要であった。60%以上のエタノール水溶液は消防法の危険物に該当するため、完全に溶解した高野槇スプレーは、危険物に該当する製品となることが予想された。

(3) 高野槇精油の含有量の嗜好調査

調査の結果、図1のとおりとなり、高野槇精油 300 μL を溶解したスプレー (精油3%) が好ましいという傾向が見られた。

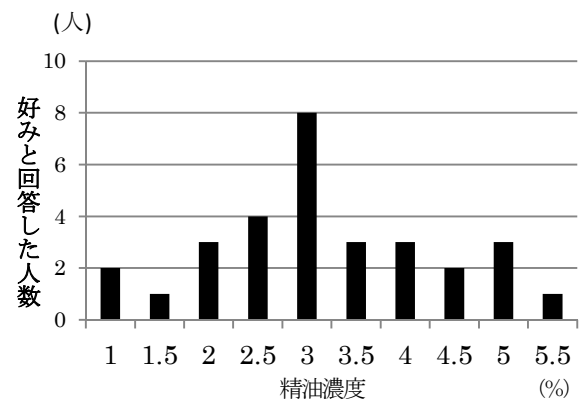


図1. 高野槇精油の含有量の嗜好調査

(4) 界面活性剤の検討

11種類の界面活性剤について検討したところ、ポリオキシエチレン(10)硬化ヒマシ油のみ乳化することができ、他10種類については分離した。ポリオキシエチレン(10)硬化ヒマシ油について、量を減らして検討した結果、乳化するためには8~10%の界面活性剤が必要であった。

(5) エタノール濃度の違いが香りに及ぼす影響の調査

高野槿精油 3% で水-エタノール比を変更した試作品の香りの強さについて調査し点数化したところ、30人の合計点数は、80%、50%、10%エタノールスプレーの順に 71.5 点、66 点、41.5 点となり、エタノール濃度の高い順に香りが強く感じられる結果となった。ここで、80%エタノールスプレーは危険物に該当し、取扱いに制約があることから、芳香剤スプレーの処方精油 3% を 50%エタノール水溶液に溶解することに決定した。

3. 2 安定性試験

(1) 抗菌性試験

抗菌性試験の結果、図 2 のとおりとなり、高野槿精油は、*Staphylococcus aureus* に対してわずかに阻止円ができ、抗菌性がみられた。

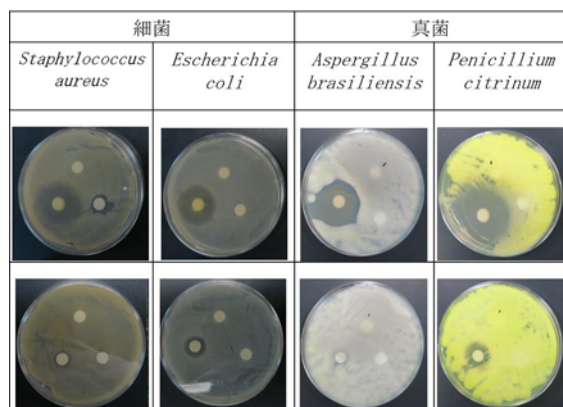


図 2. 抗菌性試験

(上段; 上: 水 左下: 青森ヒバ精油 右下: 高野槿精油)
(下段; 上: 50%エタノール溶液、左下: 青森ヒバスプレー液、右下: 高野槿スプレー液)

(2) 生菌数試験

試作時、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月保存後の生菌数試験の結果は表 2 のとおりとなり、細菌・真菌は検出されなかった。

表 2. 生菌数試験

単位 (cfu/mL)

	作成時		1ヶ月	
	真菌	細菌	真菌	細菌
高野槿スプレー液	0	0	0	0
青森ヒバスプレー液	0	0	0	0

	3ヶ月		6ヶ月	
	真菌	細菌	真菌	細菌
高野槿スプレー液	0	0	0	0
青森ヒバスプレー液	0	0	0	0

3. 3 香りの分析法の検討

(1) 高野槿精油の成分

高野槿精油の成分について GC-FID および MS で特定・定量を行ったところ、 α -ピネン 52.3%、カン

フェン 1.6%、ミルセン 5.0%、D-リモネン 4.7%、カリオフィレン 4.9% となった。高野槿に特徴的な香气成分といわれている¹⁾ 1,3,5-ウンデカトリエンは検出できなかった。

(2) 香り成分の検出

高野槿精油、高野槿スプレー液を SPME 法にて抽出し、GC-MS/GC-0 にて測定したところ、高野槿精油からは 1,3,5-ウンデカトリエンを検出できたが、高野槿スプレー液では検出できなかった。また、高野槿スプレーをデシケーター内に噴霧し、Twister を設置する方法 (HSSE 法) では、噴霧回数 2 回 (約 0.5g) 以上の噴霧量で、1,3,5-ウンデカトリエンを検出できた。

そこで、噴霧回数 2 回として、抽出時間を 30 分、2 時間、5 時間、8 時間とし、1,3,5-ウンデカトリエンの抽出量を比較したところ、図 3 のようになり、最適な抽出時間があることが示唆された。

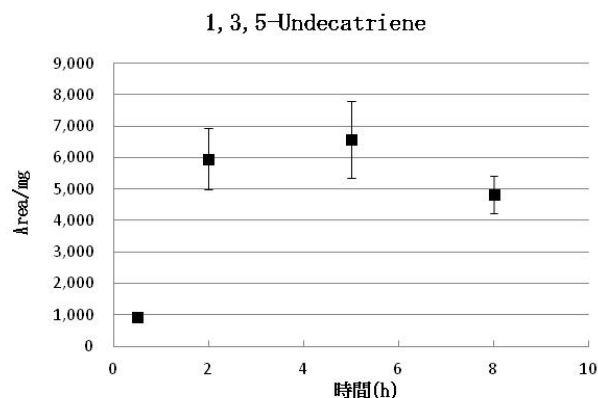


図 3. 抽出時間の検討

4. まとめ

高野槿スプレーの処方検討では、高野槿精油 1% を完全に溶解させるには 70%以上のエタノール水溶液が必要であり、消防法における危険物に該当した。界面活性剤の検討も行ったが、製品としての外観、使用感の点から水-エタノール系が好ましいということになった。モニター調査の結果も考慮に入れ、振り混ぜたのち使用することを前提に、高野槿精油 3% を 50%エタノール水溶液に溶解する処方に決定した。特徴的な香り成分の分析は、その含有量には比例せず微量であるため、Twister を用いた揮発成分の捕集法 (HSSE 法) による GC-MS/GC-0 が有効であった。噴霧量は一定以上必要であり、その抽出は 2~5 時間でほぼ飽和状態になることが判明した。この方法は他の揮発性成分の香气分析にも使用できると考えられる。

1) 花王株式会社ニュースリリース 大量濃縮法を開発し、高野山・熊野地方を代表する自然の香りを分析 2006 年 12 月 26 日

和歌山県工業技術センター研究報告（平成 26 年度・第 25 号）

平成 28 年 3 月発行

編集・発行 和歌山県工業技術センター

和歌山市小倉 60 番地

TEL (073) 477-1271

FAX (073) 477-2880

印刷所 株式会社 おかだプリント

TEL (0738) 22-2092

FAX (0738) 24-2131



WINTEC

未来に結ぶ技術の架け橋
和歌山県工業技術センター