

和歌山県工業技術センター

研究報告

令和元年度

REPORTS OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY CENTER OF
WAKAYAMA PREFECTURE



WINTEC

未来に結ぶ技術の架け橋

発刊に当たって

和歌山県工業技術センターでは、研究紀要として「研究報告」を毎年1回発行し、当センター研究員を中心に行った研究の成果を皆様に御報告しています。

本年度については、平成22年度から平成30年度までの研究のうち、7報を掲載しています。これらの研究内容が、少しでも皆様方のお役に立つことを願っています。

なお、平成31年4月にセンター内の組織を再編し、部名の見直しを行っていますが、本誌に掲載している部名は、その当時の部名となっていますので、御了承ください。

参考

平成30年度に当センターで実施した研究事業は、以下のとおりです。これらの研究概要については、「平成30年度 業務年報」（令和元年11月発行）を御参照ください。

・ 県事業

地域産業活性化促進事業 20件、コア技術確立事業 3件、未来企業育成事業 3件、農林水産業競争力アップ技術開発事業 3件

・ 国事業

革新的技術開発・緊急展開事業 地域戦略プロジェクト（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター；農林水産省委託）1件、課題解決型福祉用具実用化開発支援事業（国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構）1件、研究成果展開事業 A-STEP 機能検証フェーズ（国立研究開発法人 科学技術振興機構）1件、地域産学バリュープログラム（国立研究開発法人 科学技術振興機構）1件

・ その他事業

環境対応革開発実用化事業（特定非営利活動法人 日本皮革技術協会）1件、公設工業試験研究所等が主体的に取り組む共同研究補助事業（公益財団法人 JKA）1件、廃棄物・海域水環境保全に係る調査研究費助成制度（公益財団法人 廃棄物・3R研究財団）1件

・ 企業からの依頼による研究 10件

本誌について、御意見、御質問等がある場合には、次の問合せ先まで気軽にお問合せください。

問合せ先 和歌山県工業技術センター 企画総務部 企画調整課
〒649-6261 和歌山市小倉 60 番地
電 話：(073) 477-1271
ファックス：(073) 477-2880
ウェブサイト：<https://www.wakayama-kg.jp/>

(ウェブサイトにおいて、本誌のカラー版や「業務年報」等の刊行物を公開しています。)

目次

1	古道酵母の改良育種	藤原真紀、吉村侑子	1
2	ウメ「橙高」果実の熟度が乳化特性に及ぼす影響	片桐実菜、中村 允	4
3	麺類及び菓子類の食感の客観的数値化	片桐実菜、中村 允	6
4	パイル織物を用いた一槽型アナモックス処理による染色排水からの窒素除去	山際秀誠	9
5	人工知能を用いた汚泥中のミミズの検出技術に関する研究	野村侑平、徳本真一、重本明彦、赤木知裕、山際秀誠	12
6	燃焼-イオンクロマト分析法による塩素及び臭素の測定技術の高度化	増田 剛、松本明弘、大崎秀介	15
7	高速度撮影システムによるマイクロリアクター内の反応挙動解析	西山靖浩、森 一、前田拓也、徳本真一 垣内喜代三、森本 積、中野百恵、林田賢佑	18

古道酵母の改良育種

(食品産業部) 藤原真紀、吉村侑子

要 旨

古道酵母は、当センターで平成 16 年に熊野古道から単離、実用化された酵母であり、現在、県内酒造メーカーからこれを用いた清酒が地域特異性の高い商品として販売されている。今回、この古道酵母に UV 照射や薬剤処理によって変異を導入し、吟醸香高生産株の育種を行った。試験管レベルでの選抜、小仕込み試験等により、カプロン酸エチル、酢酸イソアミルの 2 種類の吟醸香について、それぞれ複数の高生産株を取得することができた。今後、地域特異性が高く、かつ、香り高い清酒としての実用化を目指す。

1. 緒言

清酒醸造において、酵母は、アルコールだけでなく多くの香気成分を生成する。これら香気成分の生成量のバランスは、酵母の菌株によって異なるため、製品設計の上で酵母の選抜は重要なファクターである。また、近年、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。

当センターでは、和歌山県オリジナル酵母を複数保有しており、そのうちの 1 つに古道酵母と呼ばれているものがある。古道酵母は、平成 16 年に熊野古道の土壌から単離された野生酵母で、これを用いた清酒が県内酒造メーカーより商品化されている。

古道酵母は、地域特異性の高い酵母であるが、自然界から単離した野生酵母であるため、吟醸香には乏しい。本研究では、古道酵母に UV 照射と薬剤処理の 2 種類の方法で変異を導入し、薬剤耐性を利用して吟醸香（カプロン酸エチル、酢酸イソアミル）高生産株の育種を試みた¹⁻³⁾。

2. 実験方法

2. 1 使用菌株

当センター所有の古道酵母を使用した。

2. 2 培地

酵母の培養には以下の培地を使用した。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%）、YEPG 寒天培地（酵母エキス：1.0%、ポリペプトン：1.0%、グリセロール：4.0%、寒天：1.5%）、最少培地 A (Difco Yeast nitrogen base：0.67%、グリセロール：2.0%、寒天：2.0%)、最少培地 B (Difco Yeast nitrogen base W/O amino acids：0.67%、グルコース：2.0%、寒天：2.0%)、YPD10 培地（酵母エキス：1.0%、ポリペプトン：2.0%、グルコース：10.0%）。プレグネノロン類縁体（プレグネノロン、プレグナンジオール、コレステロール）のいずれかを含む培地は、最少培地

A に 10mM になるように薬剤を添加した²⁾。5, 5, 5-トリフルオロ-DL-ロイシン含有培地は、最少培地 B に 190 μ g/ml になるように薬剤を添加した³⁾。セルレニン含有培地は、YPD 寒天培地、YEPG 寒天培地にセルレニンを 5 μ g/ml となるように添加した⁴⁾。

2. 3 薬剤耐性株の分離

UV による酵母の変異処理は、和池らの方法⁵⁾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⁴⁾を一部改変して行った。変異処理を行った後、菌株を薬剤含有寒天培地に塗布し、30 $^{\circ}$ C で培養後、生育した単コロニーを分離した。

2. 4 吟醸香高生産菌の選択

液体発酵試験には、YPD10 培地を使用した。薬剤耐性株を植菌し、15 $^{\circ}$ C で 6 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。得られた上清について、酒類総合研究所標準分析法⁶⁾に従い、ヘッドスペースガスクロマトグラフ (HS-GC) を用いて、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定量して香気生成能を評価した²⁾。

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⁷⁾をもとに、一部改変して行った。総米 50g (乾燥麹 10g、 α 化米 40g)、汲水 79g とし、一段仕込みを行った。15 $^{\circ}$ C で 20 日間静置し、毎日発酵容器の重量を測定した（発酵が進むにつれて、アルコールが生成され、二酸化炭素が容器外に排出されるため、発酵容器全体の重量は徐々に減少する。）。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。生成酒の香気成分の測定は、HS-GC で実施し、アルコール濃度の測定は、Rezox ROA-Organic Acid カラム (島津 GLC) を用いた液体クロマトグラフィーで行った。

3. 結果と考察

3. 1 酢酸イソアミル高生産株の取得

古道酵母を元株として、UV 処理、EMS 処理の2種類の変異処理を行った。酢酸イソアミル高生産株は、前駆体であるイソアミルアルコールから酢酸イソアミルへの変換が増強された株を取得する方法（方法A）と、イソアミルアルコールの生産が増強された株を取得する方法（方法B）により検討した。方法Aでは、プレグネノロン類縁体（プレグネノロン、プレグナンジオール、コレステロール）のいずれかを含有する選択培地を用い、合計 329 株の候補株を取得した。また、方法Bでは、5,5,5-トリフルオロ-DL-ロイシン含有培地を用い、119株の候補株を取得した。これら448株の候補株の中から生育が良好であった 130 株を選抜し（2次スクリーニング）、液体培地（YPD10）での培養上清を用いて HS-GC による香り成分の分析（3次スクリーニング）を行った。その結果、元株より酢酸イソアミルの生成量が多い、又は E/A 比（酢酸イソアミル量/イソアミルアルコール量×100）が上昇したと判断できた 15 株を選抜し、小仕込み試験（4次スクリーニング）を行った。経時的に重量減少量を測定した結果を図1に示した。変異株の重量減少量の平均は元株より少なくなり、もろみ日数（発酵日数）20 日時点でのエタノール濃度の平均は、元株が 17.1%であったのに対し、変異株は 15.5%で、若干、発酵性能の低下が示唆された。一方で、得られた清酒の香り成分を分析したところ、変異株 15 株中 7 株で酢酸イソアミルの生成量が増加し（図2）、元株の9倍以上を生産する株も得られた。酢酸イソアミルの生成量が増加した7株のうち、6株が方法Bで取得した株であり、前駆体であるイソアミルアルコール量も増加していたが、イソアミルアルコールから酢酸イソアミルへの変換率である

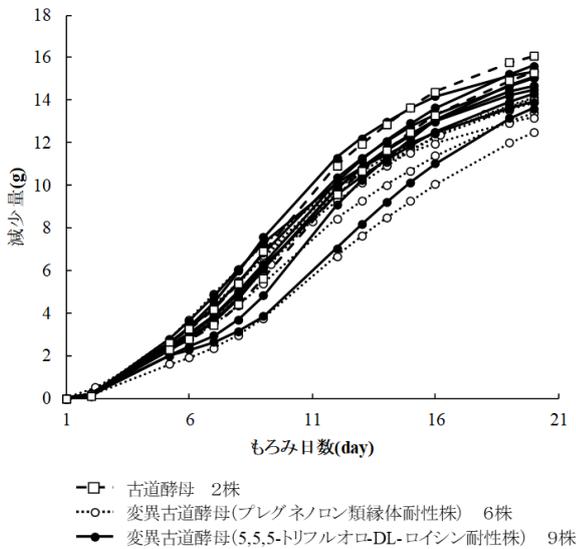


図1 酢酸イソアミル高生産候補株におけるもろみの重量減少

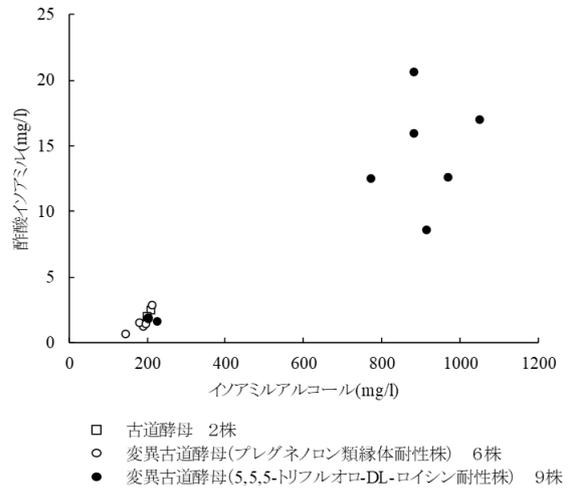


図2 酢酸イソアミル高生産候補株における生成酒の香り成分

E/A 比が上昇しており、酢酸イソアミルの生産割合が増加しているものと考えられた。

3. 2 カブロン酸エチル高生産株の取得

本研究では、セルレニン含有培地を用い、227 株のカブロン酸エチル高生産候補株を取得した。このうち、グリセロールを炭素源として生育良好であった 54 株を選抜し（2次スクリーニング）、液体培地（YPD10）での培養上清を用いて HS-GC による香り成分の分析（3次スクリーニング）を行った。その結果、ほとんどの変異株で元株よりカブロン酸エチルの生成量が多かった。その中でも、特に生成量が多かった 10 株を選抜し、小仕込み試験（4次スクリーニング）を行った。経時的に重量減少量を測定した結果を図3に示した。変異株の重量減少量の平均は元株より少なくなり、もろみ

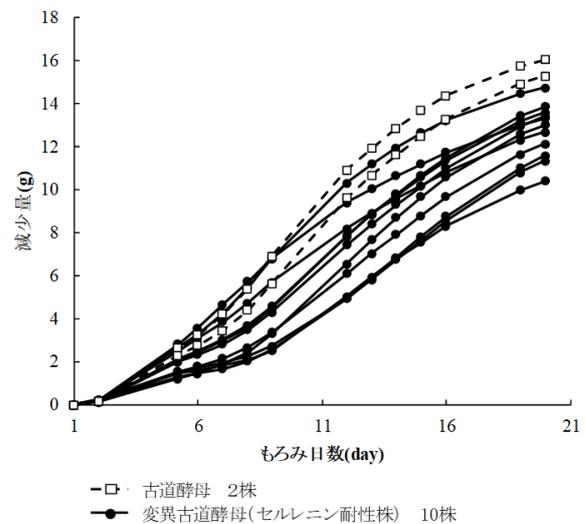


図3 カブロン酸エチル高生産候補株におけるもろみの重量減少

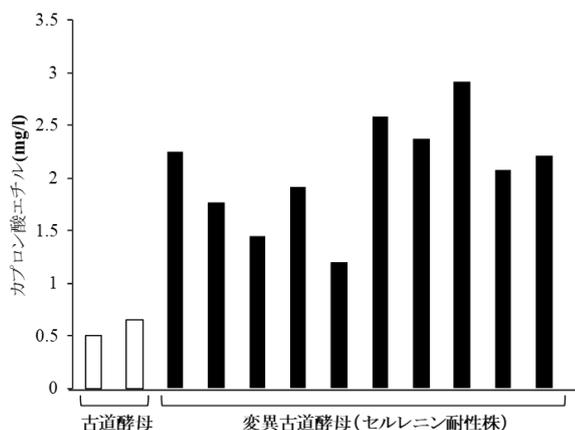


図4 カプロン酸エチル高生産候補株における生成酒の香気成分

日数 20 日時点でのエタノール濃度の平均は、元株が 17.1%であったのに対し、変異株は 14%で、最も低い株では 11.3%となり、発酵性能が低下していると示唆された。得られた清酒の香気成分を分析したところ、カプロン酸エチルは、変異株 10 株すべてにおいて元株より増加し (図 4)、最大で 5 倍以上生産する株も得

られた。

4. まとめ

当センター所有の古道酵母を元株として、変異処理を行うことで、酢酸イソアミルに関しては 9 倍以上、カプロン酸エチルに関しては 5 倍以上の高生産株を取得することができた。一方で、これらの株は発酵性能の低下も示唆され、今後、県内酒造メーカーの意見も取り入れつつ、実用化に適した株を選抜していく予定である。

参考文献

- 1) 市川英二 *醸協* **1993**, 88, 2, 101-105.
- 2) 堤浩子ほか 特開 2002-191355.
- 3) 市川英二ほか 特許第 4900746 号.
- 4) 市川英二、秦洋二、今安聡、杉並孝二 特開平 8-23954.
- 5) 和池正明、永井和夫 *生物工学実験書改訂版* 日本生物工学会編 **2002**, 135-137.
- 6) 日本醸造協会、*酒類総合研究所標準分析法注解* **2017**.
- 7) 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, 295-300.

ウメ「橙高」果実の熟度が乳化特性に及ぼす影響

(食品産業部) 片桐実菜、中村 允

要 旨

ウメ新品種「橙高」は、青果追熟果及び完熟果で果肉が濃い橙色となることを特長とする。これらの熟度の果実は、いずれも鮮やかな橙色を呈する点では大差ないものの、両者の加工特性については、これまでほとんど比較検討されてこなかった。本研究では、青果追熟果及び完熟果の乳化特性を比較することを目的に、その乳化物の乳化安定性を評価した。その結果、青果追熟果を用いた場合に、完熟果より粘度の高い安定な乳化物を作製できることが分かった。すなわち、青果追熟果の乳化特性は、完熟果より優れることが示唆された。

1. 緒言

当センターでは、色や香りに特徴のあるウメ新品種を活用し、各品種の特徴を生かす様々な加工品の開発について検討を行ってきた。

本県オリジナルのウメ新品種である「橙高」は、青果追熟果及び完熟果で果肉が濃い橙色となることを特長とする。これらの熟度の果実には、脂溶性色素であるβ-カロテンが「南高」の約6倍多く含まれることが知られている¹⁾。「橙高」の特長である色を生かした加工品を作製するためには、青果追熟果又は完熟果を原料に用いることに加え、β-カロテンを均一に溶解・分散できる脂質含量の多い乳化食品が有望であると考えられる。

青果追熟果及び完熟果は、いずれも鮮やかな橙色を呈する点では大差ないものの、その加工特性については、これまで十分に比較検討されてこなかった。そこで、今回、両者の乳化特性の違いを明らかにすることを目的に研究を行った。

具体的には、図1のとおり、まず「橙高」青果追熟果及び完熟果の果肉から果肉粉砕物であるピューレを調製し、これを油脂と混合して乳化物を作製した。既存の知見^{2, 3)}から、この乳化物(図2)において、分散相となる油滴を長期間安定的に分散させるためには、連続相となるピューレの粘度が高い方が有利であると考えられる。これを踏まえて、本研究では、ピューレ及びこれを用いた乳化物の粘度測定と、乳化物の経時変化の観察を行い、これらの結果から青果追熟果及び完熟果の乳化特性を比較したので報告する。

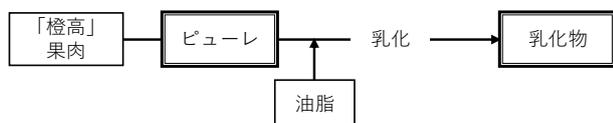


図1 ウメ乳化物の製造フロー

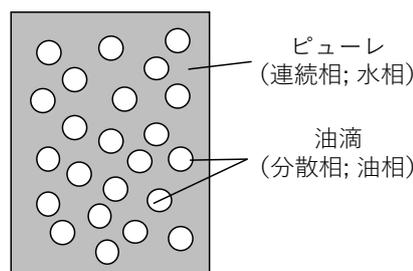


図2 ウメ乳化物の模式図

2. 実験方法

2. 1 試験果実

和歌山県うめ研究所圃場で植栽された「橙高」完熟果及び青果追熟果を用いた。なお、青果の追熟処理は、機能性段ボール箱に果実と市販のエチレン発生剤を入れ、20℃環境下5日間静置することで行った。全ての果実は、実験に用いるまで冷凍保管した。

2. 2 ピューレの調製

冷凍果実を解凍後、包丁を用いて果肉と種を分離した。この果肉をナイフミル(グラインドミックス GM200; ヴァーダー・サイエンティフィック(株))を用いて5,000 rpmで30秒間粉砕した後、更に10,000 rpmで30秒間粉砕し、ピューレを調製した。

2. 3 ピューレの粘度測定

ピューレの粘度測定には、B型回転式粘度計(TV-10, 少量サンプルアダプタ取付; 東機産業(株))を使用した。試料温度20℃としてローター回転速度0.5~100 rpmでの粘度を測定した。

2. 4 乳化物(乳化食品モデル)の調製

ピューレ16gを、シャフト型ホモジナイザーを用いて10,000 rpmで30秒間予備攪拌した。ここに大豆油24gを攪拌を続けながら8分間かけて少量ずつ添加した。大豆油を全量添加した後、更に1分30秒間仕上げ攪拌を行い、乳化物を調製した。

2. 5 乳化物の粘度測定

乳化物の粘度測定は、上記2. 3と同様に行った。

2. 6 乳化安定性の評価

乳化物は調製後4℃にて4週間後まで保管し、外観観察により油相の分離や性状の変化の有無を調べた。

3. 結果と考察

3. 1 ピューレの粘度

図3にピューレの粘度測定の結果を示す。この結果から、ピューレの粘度は、青果追熟果を用いた方が完熟果を用いたものより高粘度となることが分かった。

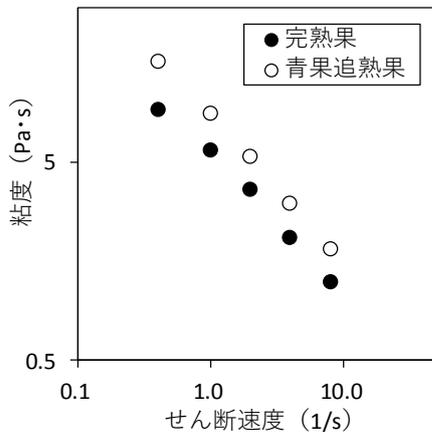


図3 ピューレの粘度

一般的に、ウメの熟度が進むことで水溶性ペクチンが増加し、果肉ピューレの粘度は高くなることが知られている⁴⁾。完熟果及び青果追熟果は、いずれも熟度が進行した果実であり、水溶性ペクチンは十分に増加した状態であると考えられる。したがって、今回の両者の粘度の違いは、ペクチンの量による違いよりむしろ、分子量等の他の要因による影響が考えられる。今後ペクチンの変化を詳細に解析し、考察する必要がある。

3. 2 ピューレの乳化性

次に、このピューレを用いて乳化物を試作した。青果追熟果及び完熟果の乳化物の外観に大きな違いは見られず、調製後4℃4週間経過した後もいずれの乳化物にも目立った外観の変化は見られなかった(図4)。



図4 乳化物の外観(4℃4週間後)

一方、乳化物の粘度は、青果追熟果で完熟果より高粘度となることが分かった(図5)。上記のとおり、粘度は乳化安定性の重要な要素であり、高粘度の乳化物では低粘度の乳化物より長期間安定な乳化状態を保つのに有利である。より長期間あるいは高温となる環境で保管する場合には、両者の違いが明らかになる可能性が考えられる。今後、油滴径等の微細構造の観察と併せて検証を行う予定である。

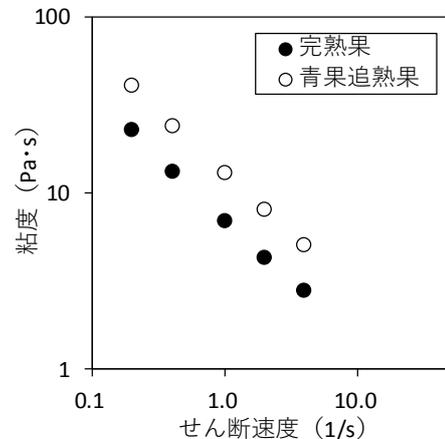


図5 乳化物の粘度

4. まとめ

ウメ新品種「橙高」を用いて果実の熟度が乳化安定性に及ぼす影響を検討した。本研究の結果から、完熟果及び青果追熟果では、青果追熟果を用いた場合により粘度の高い安定な乳化物を作製できることが分かった。すなわち、青果追熟果の方が完熟果より乳化特性に優れることが示唆された。

本研究では、青果の追熟条件は一条件としたが、これを最適化することで乳化特性を更に改良できる可能性も考えられるため、今後検討を進める。

5. 謝辞

本研究は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業(うち地域戦略プロジェクト)」の支援を受けて行った。

参考文献

- 1) 根来圭一、林恭平、岩本和也、大江孝明 園学研, 2007, 6, 469.
- 2) 松村康生、松宮健太郎、宮本有香 日本調理科学会誌 2010, 43, 206-212.
- 3) 鈴木敏幸 色材協会誌 2004, 77, 462-469.
- 4) 真部孝明 ペクチン 幸書房, 2001, 94-95.

麺類及び菓子類の食感の客観的数値化

(食品産業部) 片桐実菜、中村 允

要 旨

食品の開発や品質管理等の各段階においては、おいしさの重要な要素である「食感」の客観的な評価が必要不可欠である。本研究では、人の咀嚼を擬似的に再現する圧縮破断試験により、パスタ麺とビスケットの食感を評価した。パスタ麺については、茹で上げ後の食感変化を示すデータを取得することができた。また、ビスケットについては、試料間の噛み心地の違いを示唆するデータを得ることができた。

1. 緒言

食感は、味や香りとともに、おいしさに関与する重要な要素である¹⁾。本来、食感は、人の五感で知覚される感覚であることから、これを評価する方法としては、人を評価者とする官能評価が適切であると考えられる。しかしながら、この方法には、評価者の嗜好や健康状態等の複数の主観的要因が影響を及ぼす可能性があり、必ずしも定量的な評価にならない欠点がある。これらのことから、食品業界では、専用の機器を用いて人の咀嚼を擬似的に再現し、そのときの荷重や咀嚼音から食感を客観的に評価する方法が多く取り入れられている。

当センターでは、食品企業の食感評価に対する支援強化を図るため、平成 30 年度に新たに食感評価装置「クリープメータ 2 軸物性試験システム」を整備した。本研究では、この装置を用い、治具により対象試料を咀嚼(圧縮破断)し、このときの荷重変化から人の食感を客観的に数値化することを試みた。本報告では、パスタ麺及びビスケットの食感評価を行った結果について報告する。

2. 実験方法

2. 1 パスタ麺の食感評価

パスタ麺茹で上げ後の食感変化を評価した。本実験には市販のパスタ乾麺を使用し、長さ 5 cm に切断した後、沸騰水中で 7 分(商品の推奨茹で時間)茹で上げた。麺の乾燥を防ぐために茹で上げ後の麺を速やかに常温水中に浸漬し、浸漬後(茹で上げ後) 0 分、10 分、20 分、30 分及び 60 分経過時に下記条件により圧縮破断試験を行った。なお、パスタ麺は治具の長辺に対して垂直方向に設置した。

使用機器：(株)山電 クリープメータ 2 軸物性試験システム RE2-33005C(XZ)

試験治具：くさび形(幅 30 mm、先端角 30°、先端 1 mm 幅平面)

試験速度：1 mm/秒

ひずみ率：95%

試験温度：20°C

$$\text{微分値 (N/mm)} = \frac{\text{次の測定点の荷重 (N)} - \text{基準の測定点の荷重 (N)}}{\text{次の測定点の変位 (mm)} - \text{基準の測定点の変位 (mm)}}$$

データ取得速度：0.03 秒毎

2. 2 ビスケットの食感評価

本実験にはビスケット A(直径約 30 mm、厚さ約 7 mm)及びビスケット B(直径約 30 mm、厚さ約 5 mm)の 2 種類を使用し、この中心部をビスケット直径より小さい円柱形治具で圧縮、破断させた。なお、微分値(N/mm)は次式により算出した。また、統計解析は t 検定により行った。

使用機器：(株)山電 クリープメータ 2 軸物性試験システム RE2-33005C(XZ)

試験治具：円柱形(直径 8 mm)

試験速度：1 mm/秒

ひずみ率：98%

試験温度：20°C

データ取得速度：0.03 秒毎

3. 結果と考察

3. 1 パスタ麺の食感評価

本実験のパスタ麺は、茹で上げ後経時的に吸水・膨潤した(麺の直径及び 0 分の麺を 100%としたときの膨潤率：0 分 2.17 mm(100%)、10 分 2.26 mm(104%)、20 分 2.28 mm(105%)、30 分 2.32 mm(107%)、60 分 2.45 mm(113%))。

図 1 に典型的な圧縮破断試験の結果を示す。茹で上げ直後(0 分)の麺では明確な降伏点は観察されなかった。この麺は、先端に平面部を有するくさび形治具により圧縮されて柔軟に変形した。一方、茹で上げ後 10 分以上経過した麺では変位 1.5 mm 以上 2.0 mm 未満において降伏点が観察され、茹で上げ後 10 分以内に顕著に麺の物性が変化することが分かった。

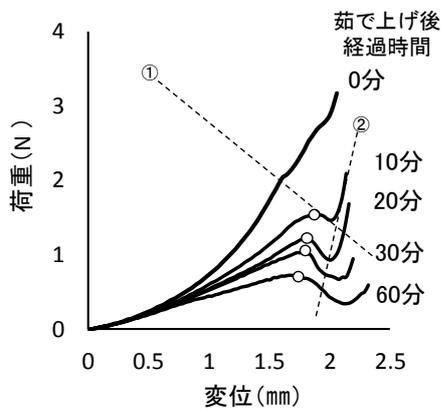


図1 パスタ麺の破断曲線
(図中○は降伏点を示す。)

経過時間による麺の物性の違いを詳細に比較するために、破断曲線の傾きを示す弾性率について解析した。その結果、変位 0.5 mm未満の弾性率の違いは小さかったが(初期の弾性率N/mm: 0分 0.53, 10分 0.50, 20分 0.45, 30分 0.45, 60分 0.42)、降伏点直前の弾性率には最大10倍以上の大きな違いがみられた(降伏点直前の弾性率N/mm: 0分 4.95, 10分 1.24, 20分 0.82, 30分 0.65, 60分 0.41。ただし、0分の麺は変位 1.5 mm以上における弾性率を示す。)。すなわち、変位の増加に伴う弾性率の変化は0分の麺で最も大きく、経過時間の長い麺ほど小さくなった(初期及び降伏点直前の弾性率の比: 0分 9.2, 10分 2.5, 20分 1.8, 30分 1.5, 60分 1.0)。

さらに、10分以上経過した麺の破断最終段階における物性の違いを比較するために、降伏点直後の弾性率(図1点線①の傾き)及び最終段階の弾性率(図1点線②の傾き)を解析した。図2に示すとおり、降伏点直後の弾性率は経過時間30分まで減少し、60分経過した麺では再び増加した。一方、最終段階の弾性率は、経過時間に伴い段階的に減少することが分かった。

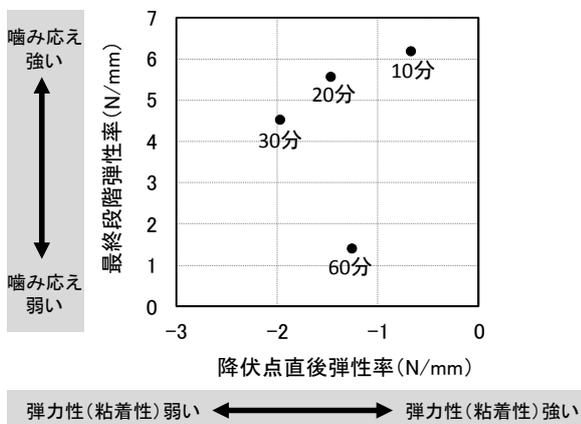


図2 パスタ麺の降伏点直後及び最終段階の弾性率

これらの結果は、パスタ麺茹で上げ後の経時的な食感の変化を示すものであると考えられる。0分の麺で

は明確な降伏点が観察されないことから、噛みしめることにより次第に強い噛み応えを感じる麺であると言える。さらに、この麺では変位の増加に伴い弾性率が急激に増加することから、噛み始めと噛み終わりでは硬さが顕著に異なる食感であることが示唆され、いわゆるコシのある食感を示すものと考えられる。

また、今回の結果から茹で上げ直後の麺の食感は、茹で上げ後10分以内に大きく変化することが分かった。10分以上経過した麺では、弾性率の低下とともに降伏点の荷重が経時的に減少することから、徐々に噛み応えは弱くなることが予想される。さらに、経過時間の長い麺ほど降伏点に至るまでの弾性率の変化は小さくなることから、食感変化に乏しい単調な食感になると考えられる。また、図2に示す降伏点直後の弾性率は、麺に破断が生じた後の荷重の変化率を示し、弾力性や粘着性のない麺ほど値は小さくなる(負の傾きが大きくなる)と考えられる。一方、最終段階の弾性率は麺を噛み切る際の硬さに直結し、この値の大きいものほど噛み切り感の強い麺であると予想される。今回の結果から、経過時間30分までの麺では経過時間に伴い徐々に噛み応えが弱くもろくボソっとした噛み切り感に変化すると考えられる。さらに、60分まで経過した麺では、噛み応えは一層弱くなり、歯切れが悪く粘着質な噛み切り感に変化すると予想される。

これらを総合すると、茹で上げ直後の麺は噛みしめることにより強い噛み応えが感じられるコシのある食感であるのに対し、茹で上げ後時間経過に伴い噛み応えの低下とともにもろい食感に変化する。さらに、一定時間以上経過した場合には、噛み応えの著しい低下に加え歯切れの悪い食感に変化することが示唆された。

3. 2 ビスケットの食感評価

ビスケットの嗜好性には、第一咀嚼(一噛み目)の食感のみならず、第一咀嚼によって生じた破片を噛み潰すときに感じられる食感が重要であると考えられる。本実験では、試料との接触面積が大きく第一咀嚼後の食感を測定しやすい円柱形治具²⁾を選択した。

典型的な圧縮破断試験の結果を図3に示す。試料を2分割するような大きな破断(図中○で示す)は、ビスケットA及びBともに変位1mm以下において生じ、このときの荷重はビスケットBでより高荷重となることが分かった。この破断後、ビスケットAでは変位1mm以上5mm未満、ビスケットBでは変位1mm以上3mm未満において複数回の破断が起こり、その後どちらも著しく荷重が増加した。

両者の違いを詳細に解析するために、破断曲線を微分波形に変換し比較した(図4)。微分波形は、変位に対する荷重の変化率を示し、ビスケットA及びBともに荷重に細かな増減のあることが分かった。また、負の極小値を有するピークの本数を振幅の大きさによ

り4段階に分けて比較したところ、振幅の大きさ |100| 以上の大きいピークはビスケットBで有意に多く、一方、振幅 |25| 以下の比較的小さいピークはビスケットAで有意に多いことが分かった (図5)。

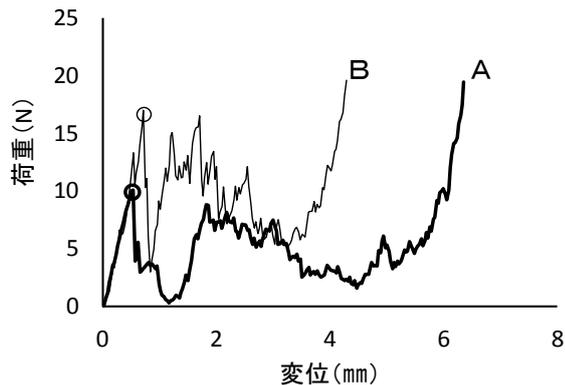


図3 ビスケットの破断曲線

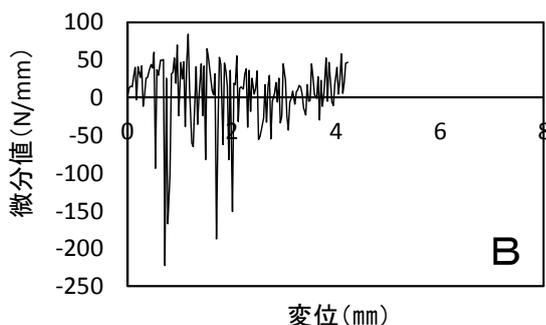
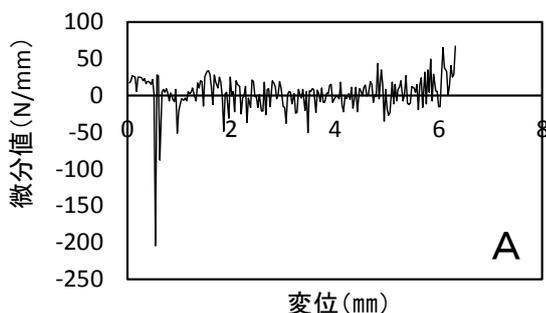


図4 ビスケット破断曲線の微分波形

今回得られた破断曲線から、供試したビスケット2種類はいずれも咀嚼の第1段階に大きな破断により破片を生じ、この破片が第2段階の複数回の破断により更に細かく破砕された後、十分に細かくなった破片が最終段階に圧縮されるという破断経過を経ると考えられる。破断に伴う荷重はビスケットBでより大きいことから、ビスケットAより硬い食感であることが示唆される。

また、微分波形で振幅の大きいピークは口腔内で大きな食感の変化として感じられるのに対し、振幅が小さくなるほどより繊細な食感の変化として感じられると予想される。したがって、ビスケットAはビスケッ

トBより振幅の小さいピークの本数が有意に多く、かつ、振幅の大きいピークが有意に少ないことから、細かな食感変化を複数回繰り返すサクサクした食感であると予想される。これに対して、ビスケットBは咀嚼中に一定回数の大きな食感変化を感じるザクザクした粗い噛み心地であると予想される。

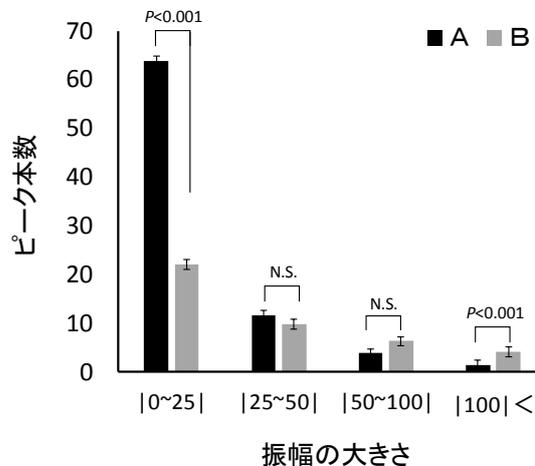


図5 ビスケット微分波形における負の極小値を有するピークの振幅の大きさ和本数 (グラフは平均値±標準誤差 (n=10) を示す。)

これらの食感の違いは、主にビスケットの密度の違いにより生じた可能性がある。ビスケットAは比較的空隙の多い商品であり、第一咀嚼後に比較的細かい破片が複数生じたのに対し、ビスケットBは空隙の少ない商品であり、第一咀嚼後に生じた破片はビスケットAより大きかった。その結果、この破片をさらに噛み砕くときに生じる荷重の大小が、上記のような食感の違いに繋がるものと考えられる。

4. まとめ

本研究では、パスタ麺及びビスケットを対象に機器を用いて食感の客観的な数値化を試みた。

パスタ麺では、茹で上げ後の経過時間に伴う食感の詳細な変化を示唆するデータを得ることができた。また、ビスケットについても噛み心地の細かな差異を示唆するデータを得ることができた。

これらの方法は、食感を客観的に評価できる点で有用である。今後、多種類の食品を対象に試験方法及び評価方法を蓄積し、食感に着目した商品開発等への活用を検討していく予定である。

参考文献

- 1) 松本伸子, 松本文子 調理科学 1977, 10, 97-101.
- 2) 大喜多祥子, 花崎憲子, 和田淑子, 倉賀野妙子 日本調理科学会誌 2015, 48, 95-102.

パイル織物を用いた一槽型アナモックス処理による 染色排水からの窒素除去

(生活・環境産業部) 山際秀誠

要 旨

本研究では、パイル織物を用いた一槽型アナモックス処理の捺染排水への適応性を検討するために、捺染業であるA社の排水処理設備に実証実験槽を設置し、実排水を用いた処理実験を実施した。その結果、最大窒素除去速度：0.66 kg/m³/day、最大窒素除去率：70.0 %が得られ、染色排水への適応の可能性を示すことができた。しかしながら、系内に流入する実排水の濃度変動によって、安定した処理を継続するには至らなかった。

1. 緒言

アナモックス反応は、アンモニア態窒素 (NH₄-N) が水素供与体、亜硝酸態窒素 (NO₂-N) が水素受容体となる自栄養性の脱窒反応である。この反応は、窒素固定→アンモニア化→硝化→脱窒という従来の生物学的窒素循環系とは全く異なる窒素変換経路であり、1995年に初めて報告された新しい窒素除去技術である¹⁻³⁾。アナモックス反応を窒素除去に適応するためには、流入する NH₄-N の約半量を NO₂-N に変換する「部分亜硝酸化」と呼ばれる前処理工程が必要である。現在までに、実用化されているアナモックス反応による窒素除去の多くは、部分亜硝酸化槽とアナモックス槽の二つの槽からなるシステムである。一方、部分亜硝酸化反応とアナモックス反応を一つの処理槽で行う一槽型のアナモックス処理の開発も進んでいる⁴⁾。当センターでは、一槽型のアナモックス処理である SNAP (Single stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitritation) について研究を行ってきた⁵⁾。

一方、和歌山市の捺染業であるA社染色工場の排水処理設備では、有機物と窒素をそれぞれ高濃度に含む排水を2段階の活性汚泥法と凝集沈殿処理を組み合わせ排水処理を行っている。しかしながら、これらの処理方法では窒素が残留するケースがあり、課題になっていた。そこで、本研究では、パイル織物を利用した SNAP 処理により捺染排水からの窒素除去が可能であるか検討するため、実証設備による実験を実施した。

2. 実験方法

2.1 供試排水

A社の排水処理設備では、第一段階で精練工程

から排出される高濃度排水を活性汚泥処理（精練活性汚泥処理）している。次に、この処理液と、他の工程で発生する排水を混合して二段階目の活性汚泥処理を行い、さらに凝集沈殿処理し、河川放流を行っている。今回の実証実験では、より高濃度の窒素を含む排水での SNAP 処理を目的に、精練活性処理設備の処理液を供試排水とした。供試排水の組成を表1に示した。

表1 A社染色工場における精練活性汚泥処理液の組成

	Ave.	Max.	Min.
COD	400	588	263
TOC	159	247	84
TN	680	1044	133
NH ₄ -N	573	880	202
NO ₂ -N	66	282	0
NO ₃ -N	38	115	0

COD:n=17、COD以外:n=42



図1 SNAPリアクタの写真

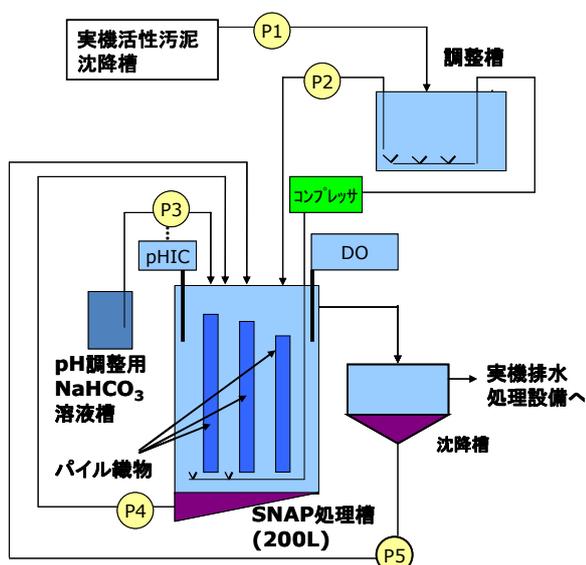


図2 SNAPリアクタの概略図

2. 2 SNAPリアクタ

A社の工場排水処理設備に SNAP リアクタを設置し、実排水を用いた実証実験を行った。図1にSNAP リアクタの写真、図2に概略図を示した。有効容量 200 L の SNAP 処理槽に固定化担体としてアクリル製パイル織物（オーヤパイル(株)製、型番：RFV-52294、面積：2.65 m²、充填率：13.3 m²/m³)を設置した。SNAP 処理槽の種汚泥は、当センターで集積培養を行った SNAP 汚泥 (MLSS = 880 mg/L) と A社活性汚泥槽汚泥 (MLSS = 820 mg/L) の混合汚泥を用いた。供試排水として、A社の精錬排水処理設備において活性汚泥処理を行った後、汚泥を沈降分離した上清を用いた。水理的滞留時間 (HRT) が 25 時間になるように SNAP 処理槽に供給した。SNAP 処理槽は NaHCO₃ 溶液を用いて pH を 7.5 に調整した。pH 調整には、pH コントロールユニット (PH-PTU-100、(株)タクミナ製) を用いた。SNAP 処理槽の液温は約 30 °C に調整した。溶存酸素濃度 (DO) はオキシライザー (荏原実業(株)製) で測定した。DO は、0.3~1.0 mg/L の範囲になるように通気量を調整した。

2. 3 分析方法

採取した試料は、0.20 μm のろ紙 (25HP020AN、ADVANTEC(株)製) にてろ過をし、分析用試料とした。NH₄-N、NO₂-N 及び硝酸態窒素 (NO₃-N) は QuAAtro ((株)BLTEC 製) により測定した。全窒素 (T-N) は TOC-V_{CPH/CPN} (株島津製作所製) で測定した。

3. 結果と考察

SNAP 処理槽による染色工場排水の処理結果について、図3に全窒素 (T-N) の経日変化を示した。図4に流入窒素負荷 (NLR)、窒素除去速度 (NRR) 及び窒素除去率の経時変化を示した。図5に処理液中の NO₂-N、NO₃-N 及び NH₄-N の経日変化を示した。流入排水の T-N は、供給開始直後から上昇し、56 日目に 1,026 mg/L に達した。この期間の処理水 T-N は、500 mg/L 程度で推移した。67 日目の流入窒素負荷が 0.95 kg/m³/day に対して、窒素除去速度及び窒素除去率は最大になり、それぞれ、0.66 kg/m³/day 及び 70.0 % に達した。この期間の処理液中の NH₄-N は、残留値が相対的に高いが徐々に減少する傾向が認められた。NO₂-N は、0 から 30 日にかけて徐々に上昇し、その後は徐々に減少した。NO₃-N は、30 日以降、

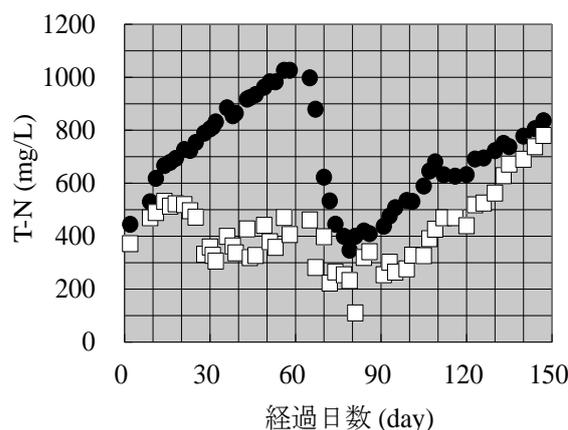


図3 SNAP 処理槽における全窒素の経時変化
●：流入 T-N、□：処理水 T-N

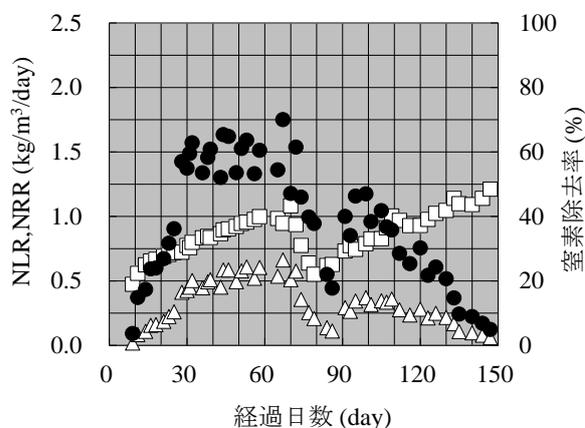


図4 SNAP 処理槽における流入窒素負荷、窒素除去速度及び窒素除去率の経時変化
□：流入窒素負荷 (NLR)
△：窒素除去速度 (NRR)
●：窒素除去率

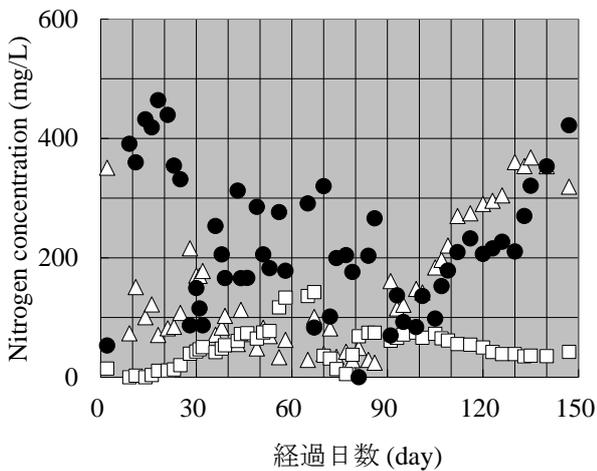


図5 SNAP 処理槽における各態窒素の経日変化
△ : NO₂-N、□ : NO₃-N、● : NH₄-N

徐々に上昇した。これらの窒素成分の挙動から、90日頃までの窒素除去は、NH₄-NとNO₂-Nを基質とするアナモックス反応の進行が示唆された。一方、90日以降は、再び流入 T-N が上昇し 852 mg/L まで上昇した。この期間では、処理水 T-N は徐々に上昇した (図 3)。窒素除去率も徐々に減少し、149 日目には 5% 以下の窒素除去率まで低下した (図 4)。この期間の各態窒素は、NH₄-N と NO₂-N が徐々に高くなり、NO₃-N が減少した (図 5)。このことから、90 日以降では、徐々にアナモックス活性が低下していることが推察された。

90 日以降でのアナモックス活性低下の要因を解析するために、実証実験に供試した排水の各態窒素の経日変化を図 6 に示した。0 から 90 日までは、供試排水の窒素成分のほとんどが NH₄-N であった。一方、90 日以降では、NH₄-N と NO₂-N が共に 300~400mg/L で存在しており、A 社の精練活性汚泥槽において、流入する NH₄-N の半分の量が NO₂-N に変換される部分亜硝酸化反応が進行していることが判った。今回の実証実験で製作した SNAP 処理槽は NH₄-N から窒素除去を目指す一槽型のアナモックス処理槽である。このため、0 から 90 日までの NH₄-N のみが流入する期間には、SNAP 処理による窒素除去が進行した。一方、90 日以降は、NH₄-N と NO₂-N がほぼ 1 対 1 で存在する「部分亜硝酸化」処理水が実験系に流入していた。本

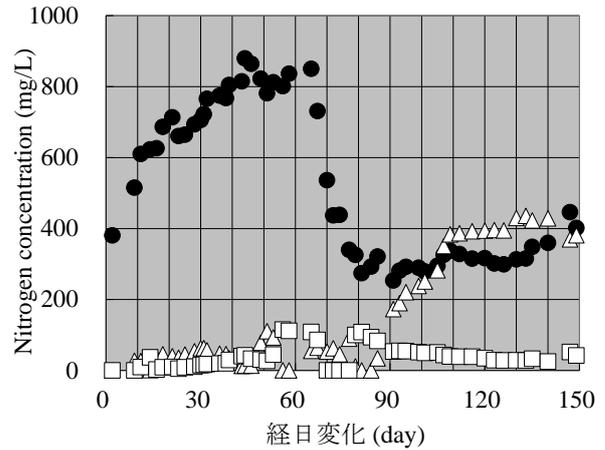


図6 供試排水における各態窒素の経日変化
△ : NO₂-N、□ : NO₃-N、● : NH₄-N

来、「部分亜硝酸化」処理水は、アナモックス反応には有利な条件であるが、NO₂-N の濃度変動が急激すぎたため、アナモックス活性が低下したものと推察された。

4. まとめ

A 社精練活性汚泥槽処理液を用いた SNAP 処理による窒素除去の実証実験を行った。その結果、最大窒素除去速度 : 0.66 kg/m³/day、最大窒素除去率 : 70.0 % が得られ、SNAP 処理の可能性を示すことができた。しかしながら、系内に流入する実排水の窒素成分が大きく変化する時期があり、安定した SNAP 処理の継続には至らなかった。

参考文献

- 1) Van de Graaf, et al., *Proc. 5th European Congress on Biotechnol.*, **1990**, 1, 383-391.
- 2) Van de Graaf, et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **1995**, 61, 1246-1251.
- 3) Mulder, A., et al., *FEMS Microbiol. Ecol.*, **1995**, 16, 177-184.
- 4) Lieu, P.K., et al., *Japanese. J. Wat. Treat. Biol.*, **2005**, 41, 2, 103-112.
- 5) Yamagiwa, Y., et al., *Proc. First International Anammox Symposium (IANAS2011)*, **2011**, 217-224.

人工知能を用いた汚泥中のミミズの検出技術に関する研究

(機械産業部) 野村侑平、徳本真一
(電子・材料産業部) 重本明彦
(生活・環境産業部) 赤木知裕、山際秀誠

要 旨

画像情報に対する畳み込みニューラルネットワークを用いた深層学習により、排水処理槽内に発生するミミズ4種類（アブラミミズ、イトミミズ、ウチワミミズ、ミズミミズ）の判別を試みた。その結果、得られたモデルの正解率は約90%であった。しかしながら、8エポックあたりから学習時と検証時における損失関数の乖離が見られたため、学習や検証に用いていない新規画像を用いてアブラミミズを除く3種の画像を判別させた。その結果、正解率は約70%にまで低下した。これらの原因を探るために、学習途上の中間層においてコンピュータが画像判別に用いている部分を検証したところ、画像内の気泡や汚泥といったミミズ以外の部分をミミズの特徴として誤って学習していることが分かった。

1. 緒言

近年、人工知能の研究開発が進んでいる¹⁾。なかでも機械学習とそのサブセットである深層学習技術の進展によって、今までコンピュータに判別させることが難しかった複雑な画像や微妙な色合いの判別ができるようになった²⁾。

当センターでは、処理槽内に設置したパイル担体にミミズを発生させ、このミミズを最上位とする食物連鎖を活用し、汚泥の減容化を行う排水処理技術(ESCAPE法)を保有している³⁾。処理槽内の汚泥状態の把握及び減容化メカニズムを解明するためには、パイル担体中に存在するミミズの数や形態が手がかかりとなるが、実証設備での定期的なサンプリングと観察は容易ではない。

そこで、本研究ではこれを省力化・自動化することを目的に、その第一段階として、深層学習を使用し、パイル担体中に存在するミミズの種類判別を自動化することを試みた。

2. 実験方法

機械学習方法には、人間があらかじめ用意した教師データをもとに学習する「教師あり学習」を採用した。教師データとなる画像については、光学顕微鏡を用いて観測対象となる4種のミミズ（アブラミミズ、イトミミズ、ミズミミズ、ウチワミミズ）の動画撮影を行い、得られた動画から1秒毎にフレームを切り出して取得した。最終的に得られた画像は2,950枚であり、その内訳はアブラミミズ904枚、イトミミズ684枚、ミズミミズ726枚、ウチワミミズ636枚であった。図1に実際の写真例を示す。



図1 学習に使用したミミズ画像の例

学習モデルとしては2のような畳み込みニューラルネットワーク(CNN: Convolutional Neural Network)モデルを構築した⁵⁾。ハードウェア環境にはGPUとしてQuadro P6000 2台搭載したワークステーション(GDEP Deep Learning BOX)を使用した。

学習には5分割交差検証を適用し、得られたモデルの精度は学習曲線、混同行列、Guided-Backpropagation(GB)により評価した。

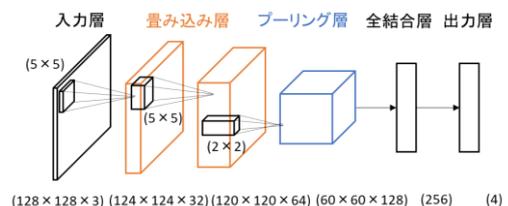


図2 学習モデル

3. 結果と考察

得られた機械学習の計算モデルに対して、学習曲線、混同行列、GB を用いて個々に計算モデルの妥当性について評価を行った。

3. 1 学習曲線

学習により得られた学習曲線を図3 (a)、3 (b)に示す。横軸であるエポックは、与えられた全ての学習データを使って学習する回数を示し、そのエポック数を増やすことにより、コンピュータの学習が進み、成果率の向上と誤差（損失）の減少が進むことが期待される。図3 (a)には学習時とその後の検証時の正解率（acc、val_acc）、図3 (b)には学習時と検証時の計算損失(loss、val_loss)を示す。この結果から、得られたモデルの正解率は約90%であることが分かった。また、図3 (b)において8エポック付近から計算損失の差が乖離傾向にあることから、過学習傾向があることが分かった。

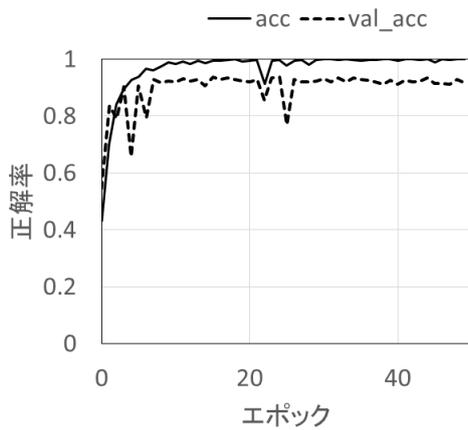


図3 (a) 学習曲線における正解率

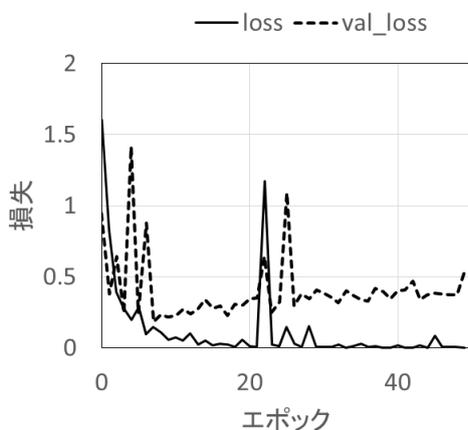


図3 (b) 学習曲線における計算損失

3. 2 混同行列

次に、計算には用いていないミミズの画像を新規に取得し、混同行列 (Confusion Matrix) の算出を行った。混同行列は、ROC 解析 (ROC: Receiver Operating Characteristic analysis) において用いられることが多く、機械学習においてもこの行列を使って判別システムの評価を行うことが多い⁶⁾。

なお、画像取得時にアブラミミズは発生していなかったため、アブラミミズを除く3種類のミミズについて、追加取得した新規画像に対し学習済モデルを使用して判別させた。その結果を表1に示す。

表1 混同行列

		予測クラス		
		イトミミズ	ミズミミズ	ウチワミミズ
正 答 ク ラ ス	イトミミズ	8	39	24
	ミズミミズ	64	298	86
	ウチワミミズ	14	102	488

表1において正答クラスとは、与えられたカード（今回は写真）を示し、予測クラスとは、そのうちどのように判別したかを示す。例えば、イトミミズについては元々71 (8+39+24) 枚の写真が与えられており、そのうちイトミミズとして判別したものが8枚、ミズミミズとして判別したものが39枚、ウチワミミズとして判別したものが24枚であることを示す。

まず、各ミミズに対する正解率(Precision)はイトミミズについて11.2% (8/(8+39+24)=8/71)、ミズミミズについて66.5% (298/(64+298+86)=298/448)、ウチワミミズについて80.8% (488/(14+102+488)=488/604)となり、全体の正解率 (Accuracy) は (8+298+488)/(71+448+604)=0.707、つまり70.7%となる。これは検証時の90%と比較して20%低下した値となる。実際に誤答した画像データを目視で確認したところ、ミミズの色や大きさなどが、学習に使用したのとは異なる傾向があることが分かった。また、今回学習に使用した画像データは、動画から切り出したものであり、同一の個体に関する画像が大部分を占めていた。そのため、ミミズの個体差をモデルに反映できず、汎化性能が低下したと考えられる。汎化性能の向上のため、単に学習データを増やすだけでなく、更に多くの個体の画像を取得する必要があることが分かった。

3. 3 Guided Backpropagationによる着目点の可視化

最後に、コンピュータがミミズ画像のどの部分を見て判別しているかを知るために、GB を利用して着目点の可視化を行った⁷⁾。例えば、図4 (a) のミズミミズであれば、入力画像におけるミミズと GB 画像におけるコンピュータの着目点を示す領域が重なっており、コンピュータはミミズを正しく捉えていると考えられる。一方、図4 (b) に示すアブラミミズについてGB 画像を見るとミミズ本体同様に、周辺の汚泥や気泡部分についてもアブラミミズの特徴として捉えていることが分かった。そこで、図4 (a) のミズミミズの画像に気泡を合成し、GB による可視化を行ったところ、結果は図4 (c) のようになった。また、判別に気泡部分が寄与しており、判別結果もアブラミミズとなっていることから、「気泡がアブラミミズの特徴である」と誤って学習していることが確認できた。

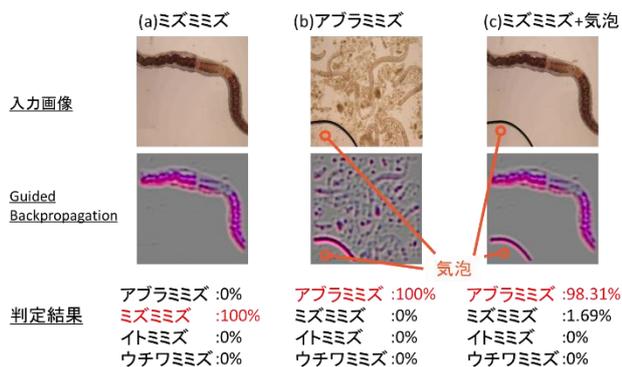


図4 GBによる着目点の可視化

このように、コンピュータ着目点の可視化技術を用いることで、コンピュータがどの領域を認識しているかが分かる。今回の場合では、光学顕微鏡で撮影した画像には気泡が含まれるケースが多いため、正しく学習するためには気泡を除去するなどの対策が必要である。

4. まとめ

今回、ミミズの画像を使用して深層学習による分類を試みた。その結果、学習時点で90%という高い正解率が得られたものの、実際のところ汎化性能が低く、気泡をアブラミミズの特徴として学習してしまうなど期待通りに学習されていないことが分かった。今後は学習データの追加取得や前処理方法の検討などにより精度の向上を図る必要がある。

参考文献

- 1) Krizhevsky, A.; Sutskever, I.; Hinton, G. E. *In Proc. of NIPS*, **2012**, 1-9.
- 2) He, K.; Zhang, X.; Ren, S.; Sun, J. *arXiv*, **2015**, 1512.03385.
- 3) 山際秀誠ほか *せんい*, **2013**, 66, 71-75.
- 4) LeCun, Y.; Bengio, Y.; Hinton, G. *Nature*, **2015**, 521, 436-444.
- 5) Springenberg, J. T.; Dosovitskiy, A.; Brox, T.; Riedmiller, M. *arXiv*, **2014**. 1412.6806.
- 6) Fawcett, T. *Pattern Recognition Letters*, **2006**, 26, 861-874.
- 7) Selvaraju, R. R.; Cogswell, M.; Das, A.; Vedantam, R.; Parikh, D.; Batra, D. *arXiv*, **2017**, 1610.02391.

燃焼-イオンクロマト分析法による塩素及び臭素の測定技術の高度化

(化学産業部) 増田 剛、松本明弘、大崎秀介

要 旨

本研究では、燃焼-イオンクロマト分析法による塩素及び臭素の定量分析を高度化することを目的に検討を行った。これまで、当センターでは、50mg/kgより低い濃度の定量を行うことができなかったが、測定条件を最適化した結果、10mg/kgまでの定量が可能となった。

1. 緒言

RoHS(Restriction of the use of certain hazardous substances in electric and electrical equipment) 指令や JPCA(Japan Electronics Packaging and Circuits Association)のハロゲンフリー規格により、電子・電気機器に使用される特定有害物質が厳格に規制されていることを受けて、塩素及び臭素の定量分析に対する需要が高まっている¹⁾。塩素及び臭素を簡便かつ迅速に分析する手法としては、蛍光X線分析法や燃焼-イオンクロマト分析法(以下、燃焼-IC分析法)がある。一般的に、前者は塩素及び臭素のスクリーニングに用いられ、後者は定量に用いられる。特に、自動燃焼装置を有する燃焼-IC分析装置では、自動で固体試料が燃焼分解されるため、簡便に定量分析を行うことが可能である。これまでに、森田らは、燃焼-IC分析法における塩素及び臭素の定量下限値が、2～5mg/kgであると報告している²⁾。しかしながら、当センターでは、装置の外部(設置環境等)からの影響により、測定におけるブランク値が高かったため、通常測定では50mg/kgより低い濃度の定量を行うことが困難であった。これに対し、県内企業からは、さらに高感度(10～50mg/kg)の定量分析を行いたいとの要望があった。そこで、本研究では、塩素及び臭素の定量値の目標値を10mg/kg(定量下限値は既報²⁾と同レベル)として、改めて測定条件の最適化を行ったので報告する。

2. 実験方法

2. 1 装置と試薬

燃焼-IC分析装置として、自動燃焼装置(SQ-5、HSU-35、ヤナコ機器開発研究所製)及びIC分析装置(ICS-2100、日本ダイオネクス製)を組み合わせ使用した。燃焼-IC分析装置の測定条件は、表1のとおりである。

標準試料として、NAC-st1(分子式: $C_{12}H_{18}NO_2FC1BrS$ 、ナックテクノサービス製)をアセトンに溶解して使用した。

表1 燃焼-IC装置の測定条件

自動燃焼装置	
燃焼温度	400～950℃
吸収液	50mg/L ヒドラジン水溶液
吸収液量	50mL
IC分析装置	
検出器	電気伝導度計
カラム	IonPac AS18
溶離液	16mmol/L 水酸化カリウム水溶液
流量	1.0mL/min
注入量	25 μ L 又は 100 μ L

2. 2 測定条件の検討

燃焼-IC分析装置の概略図を図1に示す。自動燃焼装置は、空気洗浄装置、試料導入装置、燃焼部及び吸収部からなる。空気洗浄装置では、空気が活性炭、硫酸水溶液、水酸化ナトリウム水溶液及び水に通気・浄化された後に燃焼管に送気される。試料導入装置では、試料ポート(磁性ポート、市販品 No. 2 (12×9×60mm))上の試料が燃焼管に自動で導入される。燃焼部では、導入された試料が、燃焼炉にて400～950℃で燃焼される。吸収部では、燃焼により発生した気体を含む空気が、吸収瓶中の吸収液(50mg/L ヒドラジン水溶液)に通気・溶解される。この後に、吸収液がIC分析装置に導入され、塩化物イオン(Cl⁻)及び臭化物イオン(Br⁻)の分析が行われる。

本燃焼-IC分析装置は、空気を燃焼管に送気するポンプ(ポンプ1)と燃焼により発生した気体及び空気を吸収液に吸気するポンプ(ポンプ2)の2つのポンプを有する。ポンプ1の流量(送気流量)は、約2.4L/minに固定されているが、ポンプ2の流量(吸気流量)は、0～3.0L/minの範囲で変動可能である。

本燃焼-IC分析装置は、測定時に空気や試料ポートを使用することに加えて、試料導入部と燃焼部に隙間がある構造のため、下記(1)～(3)の場合に、ブランク値が高くなると考えた。

- (1) 燃焼管に送気される空気が汚染されている場合
- (2) 吸気流量の設定値が高すぎて、試料導入部と燃焼部の隙間から、汚染された空気を取り込む場合
- (3) 試料ポートが汚染されている場合

これまで、(1)及び(3)によるブランク値を抑制するために、燃焼管に送気される空気を水及び活性炭等で洗浄し、試料ポートは加熱処理をしていたが、詳細な検討がなされていなかった。そこで、本研究では(1)～(3)によるブランク値を抑制するために、空気洗浄装置条件、吸気流量及び試料ポートの前処理(洗浄)条件の検討を行った。

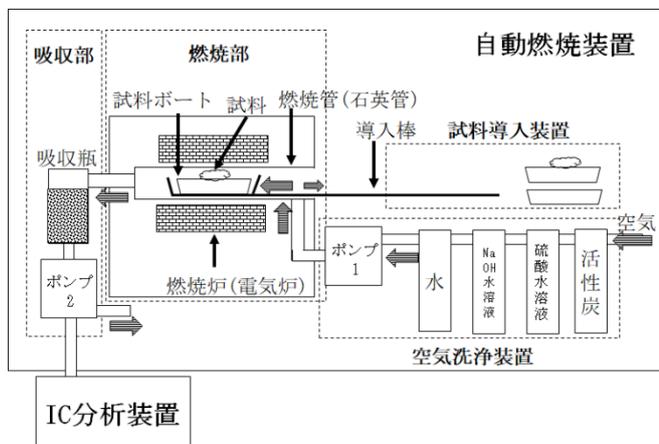


図1 燃焼-IC分析装置の概略図

(1) 空気洗浄装置条件の検討

空気洗浄装置について燃焼管に送気する空気を下記4条件で洗浄した場合における、空測定時のピーク面積を比較した。

- 条件① 水
- 条件② 水、50%硫酸水溶液及び7.5MNaOH水溶液
- 条件③ 水及び活性炭
- 条件④ 水、50%硫酸水溶液、7.5MNaOH水溶液及び活性炭

(2) 吸気流量の検討

吸気流量の検討として、自動燃焼装置外部の空気からの汚染の有無を判断するため、吸気流量を1.7～2.9L/minと変えた場合の空測定時のピーク面積を比較した。なお、燃焼部の入り口付近にクロロホルムを入れたボトルを置き、自然に揮発させたクロロホルムの流入を確認することで、塩素の汚染の有無を判断した。

(3) 試料ポートの前処理条件の検討

試料ポートとして、下記3条件における塩素の測定プロファイルと比較した。加熱処理としては、電気炉を用いて磁性ポートを900℃で1時間加熱した。

- 条件A 試料ポート無し
- 条件B 加熱処理有りの試料ポート
- 条件C 加熱処理無しの試料ポート

2. 3 検量線と定量下限値

標準試料(NAC-st1)を用いて、塩素及び臭素の検量線を作成し、定量下限値(空測定値の標準偏差の10倍相当)を求めた。

3. 結果と考察

3. 1 測定条件の検討

(1) 空気洗浄装置条件の検討

空気洗浄装置条件の検討の結果を図2に示す。空気を2.2の(1)で示した条件①、条件②、条件③及び条件④で洗浄した場合の空測定時のピーク面積は、それぞれ、0.009、0.006、0.003及び0.002となり、条件④が最も低い値となった。結果より、空気の洗浄が、水、50%硫酸水溶液や7.5MNaOHに通気するのみでは不十分であり、活性炭への通気が不可欠であると判断した。以上の結果より、水、50%硫酸水溶液、7.5MNaOH水溶液及び活性炭で洗浄する条件(条件④)を空気洗浄装置の条件とした。

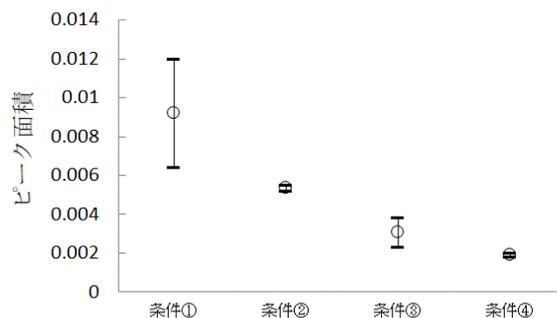


図2 空気洗浄条件に対する塩素(Cl)のピーク面積

(2) 吸気流量の検討

吸気流量を検討した結果を図3に示す。吸気流量の増加に伴って、ピーク面積が増加する結果となった。吸気流量を2.9L/minとした場合、ピーク面積が大きく増加した。これより、自動燃焼装置の外部から、揮発したクロロホルムを取り込んでいる可能性が示唆され

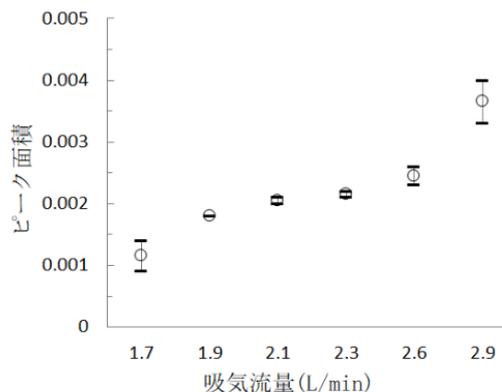


図3 吸気流量に対する塩素(Cl)のピーク面積

た。つまり、吸気流量が送気流量(2.4L/min)を上回ると、装置外から汚染された空気を取り込む可能性が示唆された。一方、吸気流量を1.4L/min以下にすると、燃焼により発生した気体を上手く吸収できなかった。以上の結果より、ピーク面積値が最も低く、測定値が安定していた1.9L/minを吸気流量とした。

(3) 試料ポートの前処理条件の検討

試料ポートの前処理条件を検討した結果を図4に示す。2.2の(3)で示した条件A、条件B及び条件Cの場合のピーク面積は、それぞれ0.003、0.003及び0.05となり、条件Bが条件Aと同等のピーク面積となった。以上の結果より、前処理として、試料ポートを電気炉(900°C)で加熱処理すること(条件B)で、試料ポータからの汚染を防止できると判断した。

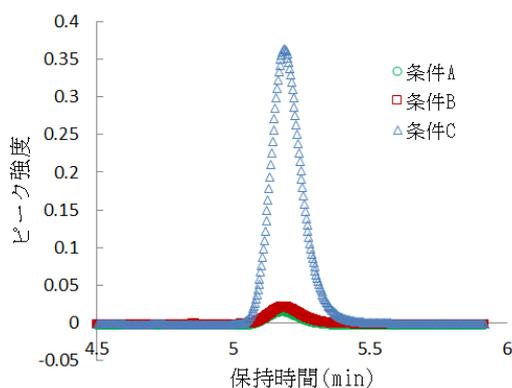


図4 試料ポートの前処理の有無での塩素(Cl⁻)の測定プロファイルの比較

3. 2 検量線と定量下限値

塩素及び臭素の検量線を図5及び図6に示す。検量線はそれぞれ7~50mg/kg及び8~70mg/kgの範囲で良好な直線となり、相関係数はそれぞれ0.998及び0.999であった。塩素及び臭素の定量下限値は、それぞれ3

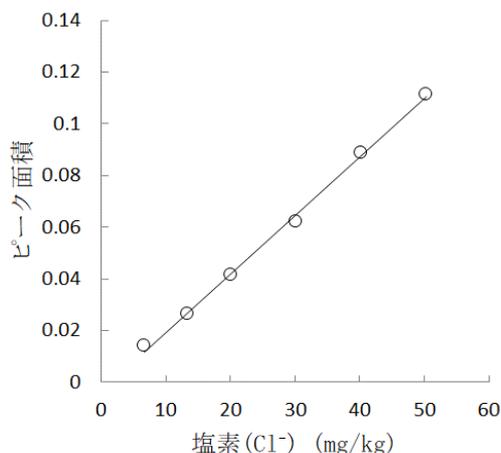


図5 燃焼-IC分析装置による塩素(Cl⁻)の検量線

mg/kg及び1mg/kgであった。これは、森田らが報告した定量下限値(2~5mg/kg)²⁾と同等の結果であった。以上の結果より、直線性が良好な検量線の範囲内であること及び定量下限値以上であることを考慮し、塩素及び臭素について10mg/kgまで定量値として報告が可能であると判断した。

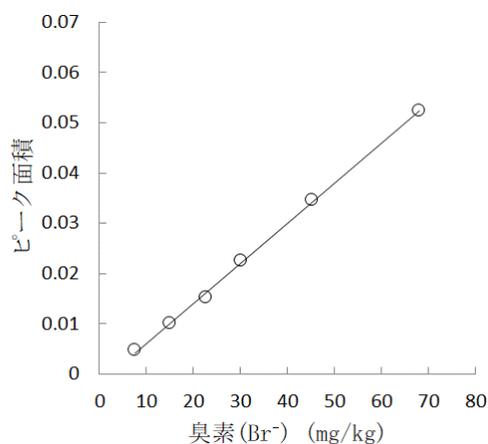


図6 燃焼-IC分析装置による臭素(Br⁻)の検量線

4. まとめ

燃焼-IC分析技術の高度化を目的として、塩素及び臭素の測定条件(空気洗浄装置条件、吸気流量及び試料ポートの前処理条件)の最適化を行った結果、装置の外部からの影響を低減し、ブランク値を低く抑えることが可能となった。最適化した条件で検量線を作成したところ、検量線の直線性及び定量下限値において、良好な結果が得られた。以上より、本法を用いて塩素及び臭素について10mg/kgまで定量が可能となった。

参考文献

- 1) 和田彩佳、三浦勉、大畑昌輝、日置昭治 分析化学, **2015**, *64*, 7, 543-549.
- 2) 森田康子、岡崎由佳、川北浩久、隅田隆 分析化学, **2012**, *61*, 5, 367-370.

高速度撮影システムによるマイクロリアクター内の反応挙動解析

(化学産業部) 西山靖浩、森 一、前田拓也

(機械産業部) 徳本真一

(奈良先端科学技術大学院大学) 垣内喜代三、森本 積、中野百恵、林田賢佑

要 旨

筆者らはこれまでに、マイクロリアクター内での光反応において、反応溶液と水や窒素などの不活性相との二相交互流条件にすることで、反応溶液一相系よりも反応が加速することを見出していたが、その原因は明らかとなっていなかった。特に、微小領域を高速で流れる流体の直接的な観測は非常に困難であり、そこからの原因解明はこれまでできていなかった。そこで、本研究では、高速度カメラと実体顕微鏡を接続した、微小領域高速度撮影システムを新たに構築し、リアクター内部での挙動を観察した。その結果、チューブ壁面と不活性相との間には、有機溶液の薄膜はほとんど生成していないことが確認でき、薄膜の生成は、光反応の効率向上にほとんど影響していないことを結論付けることができた。

1. 緒言

有機合成法の一つである有機光反応は、一般的な有機熱反応では得られない骨格を容易に与えるなどの特長を持つが、この有機光反応の進行は、光路長の長さに大きく影響される。実際、近年、新たな有機合成反応器として注目されているマイクロリアクターを利用すると、光路長の短さに起因し、劇的に反応が加速することが数多く報告されている¹⁾。本研究の共同研究先である奈良先端科学技術大学院大学においても、マイクロリアクター中での様々な有機光反応結果を報告している。さらに、不活性相である水や窒素と反応溶液との二相交互流にすると、反応が最大2倍加速することを見出している^{2, 3)}。この加速現象の理由として、1) 各媒体の屈折率の違いによる光閉じ込め効果、2) 交互流により引き起こされる効率的な攪拌効果、3) 不活性相とチューブ壁面間に生じる薄膜中での効率的な光照射効果、の3点を予想しているが(図1)、どれが主要因であるか明らかではなかった。特に、薄膜の生成は、微小領域を高速に流体が流れているため、肉眼での確認は非常に困難であった。そこで本研究では、新たに光学実体顕微鏡を導入し、それを当セン

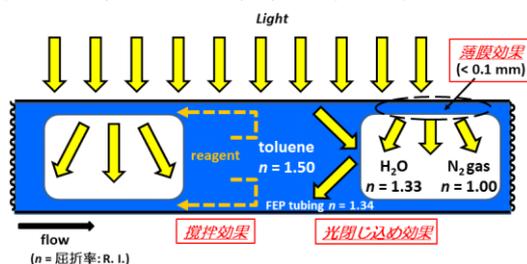


図1 予想した加速現象の各要因

ター既存機器である高速度カメラに接続することで、微小領域であるマイクロリアクター中を高速で移動する流体の動きを観察するシステムを、新たに構築した。これを利用して実際の流れの動画を取得、解析することで、特に薄膜の生成が光反応の効率向上に与える影響について、詳細に検討することを目的とした。

2. 実験方法

2. 1 高速度撮影システムの構築

当センター既存機器である高速度カメラは、早い動きの撮影を得意としているものの、微小領域の撮影には不向きであった。そこで、新たにニコン社製光学実体顕微鏡(SMZ18)を導入し、アダプターを通じて、顕微鏡と高速度カメラを接続した微小領域観察用の高速度撮影システムを構築した(図2)。

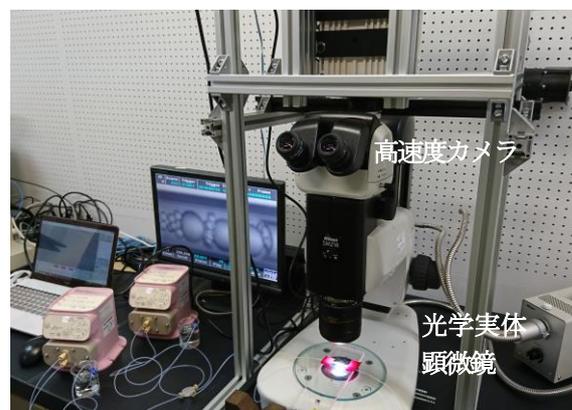


図2 新たに構築した微小領域観察用高速度撮影システム

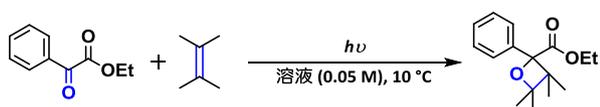


図3 本研究で検討した光反応

2. 2 動画撮影方法

本研究では、図3に示す光反応をモデル反応として検討した。今回、比較的簡単に流体の動きを観察すること及び反応基質、反応試薬の存在の有無が及ぼす薄膜生成への影響を詳細に検討するため、反応溶媒及び別途調整した反応前溶液、反応後溶液それぞれと、水あるいは窒素との二相交互流を形成させ、その様子を観察、撮影することにした。使用するチューブは、実際の光反応にも用いたフッ素樹脂製 FEP チューブであり、流速もできる限り実際の反応と同じとした。また、撮影フレームは、1,000 コマ/秒とした。

3. 結果と考察

今回の光反応では、有機溶媒としてトルエンを利用した。そこで、まず、トルエンと水ならびにトルエンと窒素の二相交互流を検討した(図4)。その結果、いずれの場合も不活性相とチューブ壁面との間に、薄膜はほとんど観察されなかった。

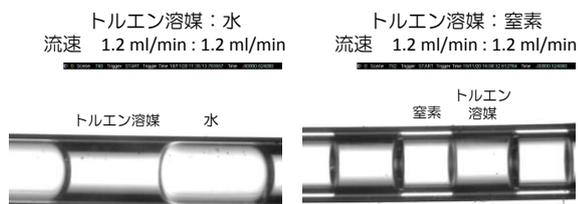


図4 トルエン溶媒と不活性相との二相交互流の様子

薄膜が観察できなかった原因が、今回作製した装置に有るのかどうかを検証するため、次に、今回用いているフッ素樹脂製の FEP チューブに対して親和性が高いフルオラス溶媒(テトラデカフルオロヘキサン)と、不活性相との二相交互流の観察を行った。その結果、明らかな薄膜が観察された(図5)。本報告書では静止画のみ載せているが、動画全体を観察しても、上記の流れが維持されていた。これらの結果は、今回作製

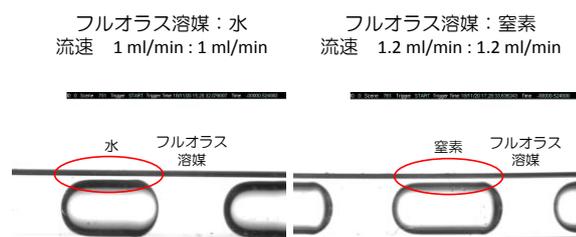


図5 フルオラス溶媒と不活性相との二相交互流の様子

したシステムは、薄膜の観察を行うのに十分な性能を有しており、かつ、不活性相とチューブ壁面との間に薄膜が形成されるためには、溶液(溶媒)とチューブ材質との間に、高い親和性が見られることが重要であることを示している。光反応に用いたトルエンは、FEP チューブに対して親和性はそれほど高くなく、結果として薄膜がほとんど観察されなかったと考えられる。

さらに、反応基質、反応試薬の有無が薄膜の生成に与える影響を確認するため、反応前の基質を含んだトルエン溶液及び反応後の基質、生成物等が含まれたトルエン溶液を別途調整し、それぞれの溶液と不活性相との二相交互流を観察した(図6)。図6は水との二相交互流を示しているが、反応前溶液、反応後溶液のいずれも、前例同様に薄膜はほとんど観察されなかった。さらに、窒素との二相交互流でも同様に、薄膜はほとんど観察されなかった。

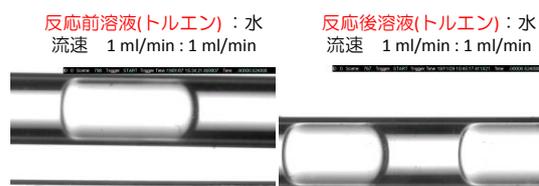


図6 反応前ならびに反応後溶液と水との二相交互流の様子

これらの結果は、トルエンを溶媒とし、FEP チューブをマイクロリアクターとして用いている本研究では、当初形成を予想していた薄膜は、反応基質、反応試薬の存在の有無にかかわらず、反応進行中にはほとんど形成されていないことを示している。このことから、今回新たに作製したシステムを利用することで、当初予想していた反応効率向上の要因のうち、薄膜内の短い光路長による効率的な光照射の影響は、ほぼ無視できることを明らかにすることができた。

加えて、別途屈折率に関する実験(屈折率の異なる溶媒を利用)及び攪拌に関する実験(粘度の異なる溶媒を利用)を実施した。その結果、反応の加速効果においては、屈折率が大きな影響を及ぼしていることを確認することができた^{2, 3)}

以上より、二相交互流を形成させた際に、一相系の結果より反応が加速するのは、溶液とチューブ材質、あるいは溶液と不活性相との屈折率の差により、光が屈折率の高い溶液相に閉じ込められることで、効率的な光照射が達成されたことが主要因であると結論づけることができた。

4. まとめ

本研究では、微小空間であるマイクロリアクター内を高速で流れる流体の動きを観察するシステムを新たに構築し、反応チューブ内の動きを詳細に確認することができた。その結果、二相交互流による光反応加速

化の要因の一つとして考えていた有機溶液薄膜の生成は、その影響をほぼ無視できることを確認することができた。

さらに、この動画の検証と反応結果をあわせて検討することで、マイクロリアクターを利用した光反応における新たな知見を得ることもできた。二相交互流による反応加速手法は、屈折率が重要な役割を果たすことから、有機光反応に特化した手法であるといえる。この手法を利用することで、マイクロリアクターを利用した光反応が、産業プロセスなどにさらに展開されていくことが期待される。

5. 謝辞

本研究は、公益財団法人 JKA 機械振興補助事業「公設工業試験研究所等が主体的に取り組む共同研究」の支援を受けて行われた。

参考文献

- 1) 例えば、Mizuno, K.; Nishiyama, Y.; Ikeda, H.; Kakiuchi, K. *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. C.*, **2016**, *29*, 107-147.
- 2) Nakano, M.; Nishiyama, Y.; Tanimoto, H.; Morimoto, T.; Kakiuchi, K. *Org. Process Res. Dev.*, **2016**, *20*, 1626-1632.
- 3) Nakano, M.; Morimoto, T.; Noguchi, J.; Tanimoto, H.; Mori, H.; Tokumoto, S.; Koishi, H.; Nishiyama, Y.; Kakiuchi, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2019**, *92*, 1467-1473.

和歌山県工業技術センター研究報告（令和元年度・第 29 号）

令和 2 年 2 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 有限会社 阪口印刷所

TEL (073) 431-5517

FAX (073) 423-5330



WINTEC

未来に結ぶ技術の架け橋
和歌山県工業技術センター