

T E C H N O R I D G E



未来に結ぶ技術の架け橋
Technoridge to the future



1 9 1

1 9 9 2

最近のヨーロッパにおける金属接合・評価技術に関する調査	2
酵素の抽出と精製の実際	4
ズームインテクノロジー	6
トピックス	7
新人紹介	8

最近のヨーロッパにおける金属接合・評価技術に関する調査

指導評価部 機械金属担当 中村 嵩

近年、溶接技術の発達は著しいものがあり、新エネルギーの利用、超精密溶接、高度自動化などの技術革新が急速に行われるとともに、その応用範囲もきわめて多岐にわたるようになってきた。産業構造と技術体系が高度化していくなかで、溶接技術分野で扱う材料、プロセスも同じように高度化・多様化し、また高機能化の要求に応じて開発された新材料も含めて生産加工現場では、溶接・接合技術及び高品質を確保することが、製品としての信頼性を保証する基本的重要課題として再確認されている。

今回、幸いにも平成4年9月4日から19日までの16日間、「最近のヨーロッパにおける金属接合・評価技術に関する調査」を目的としたスペインを中心に出張させて頂きました。

主な出張先は、スペインで開催された第45回国際溶接学会（IIW）1992年大会、INTA社、CENIM社の訪問、ポルトガル国リスボンのポルトガル溶接品質研究所、フランス国メッツのフランス溶接研究所等を公式訪問して参りましたので報告します。

1) 第45回国際溶接学会（IIW）1992年次大会

IIWは、International Institute of Weldingの略称で、フランスのパリに本部がある。

この大会が9月7日（月）マドリッドのコンgresホールにてオープニングセレモニーを皮切りに世界33ヶ国から471名の研究者が一同に会し、記念講演の後、ろう接・熱切断、アーク溶接、溶接用語、溶接力学・破壊力学、圧力容器・ボイラー・パイプライン、疲労、教育、抵抗溶接、特殊溶接、非破壊検査、安全・衛生、溶接性、自動溶接法、設計・工作の各技術委員会がまた溶接物理、情報、研究、計画・協力についてのスタディグループ、水中溶接、アルミニウム溶接、マイクロ接合、標準化、サーフェシングについての特別委員会がセッション毎に9月12日（土）まで開かれた。

私は、溶接力学・破壊力学の技術委員会に出席がゆるされ、溶接応力と溶接変形、高温における金属材料の力学的特性、溶接残留応力、溶接部の試験・検査と品質保証、溶接割れに及ぼす拘束度について事例発表、意見交換がなされた。



IIWコンgres大会会場にて

2) INTA (National Institute For Aerospace Technology)

国立航空宇宙技術研究所は国防省独自の航空宇宙開発機関として1942年に設立され、材料と構造、航空力学、エネルギーと推力、航空学の4分野に分かれており、特に航空機の開発等に関してはEC諸国が役割分担を設け、ここではエンジン固定用の翼部分の疲労試験を始めとする物理試験を中心とした研究開発が行われていた。

3) CENIM (National Center of Metallurgical Research)

国立冶金研究所はIIWの設立者メンバーであるスペインの溶接学会は、スペインの科学研究最高会議の後援のもと1946年に設立された。職員は248人で、その中3割強がシニアクラスである、この研究所は冶金、腐食、鉄鋼プロセス、鑄造、鍛造、化学分析、溶接技術、セラミックス製品開発等非常に巾の広い分野で研究開発がなされていた。

4) セビーリア万国博覧会

「アンダルシアの華」と云われている、人口65万人のスペイン第4位の大都市のガダルキビール河口に広がる総面積215ヘクタールの「カルトゥハ島」で84ヶ国が参加して、スペイン、発見、現在と未来、各国パビリオン、ショー、アトラクション、管理サービス等の

7つのエリアに分かれて、1970年大阪万国博覧会以来の一般博覧会としては22年ぶりの、今世紀最後の大規模な万国博が開催され、人類の発展を時代的背景、つまり「新大陸発見以前の時代」、「発見から1992年の時代」、そして「発展する未来」へとつながるストーリーでまとめ上げられており非常に見るべきものがあった。

5) I S Q (Instituto de Soldadura e Qualidade)

ポルトガル溶接品質研究所（公式訪問）

かつて15～16世紀の大航海時代、多くの航海者たちが世界へ船出した歴史の地、美術や歴史遺産の宝庫、16世紀の日本とポルトガルの交流を物語る興味深い街リスボンにあるI S Qを訪問した。ここは1965年に創設され218人のスタッフで、I S Q's の認可、コンピューターサービス、デザイン指導、エネルギー関連、環境、評価、金属試験・検査、磁気学、冶金学、放射線、ロボット、各種トレーニング、溶接技術等について、技術指導、技術相談、研修会、研究開発業務を行っている。

特に、銅とアルミニウムをレーザーによる接合技術、ウォータージェットによるCAD/CAMを用いての石材、プラスチック等の精密加工、各種レーザーによる特殊加工等が印象的であった。



J.F. OLIVEIRA SANTOS 所長と

6) I S (Institut de Soudure)

フランス溶接研究所（公式訪問）

フランスはパリ東駅より列車で3時間、パリの北東部に位置する街メッツにI Sを訪ねての旅、車窓からいかにも農業国らしく、ひまわり、トウモロコシ、麦等の田園地帯を走る列車、メッツの街は緑の多い、古い歴史を物語る建物と調和のとれた静かな街はずに、一変して近代的な研究所が我々の訪問したフランス溶接研究所である。

溶接に関して50年もの歴史を持ち、非破壊試験専門

機関でもあるI Sに技術と研究を目的とした溶接関係技術者延100,000人が国内外から派遣研修されているとの事である。

非破壊試験の部門においては、パイプ周方向溶接部の全周自動X線検査撮影装置の開発が目についた。

アーク溶接、炭酸ガス溶接、ティグ溶接、ミグ溶接、電子ビーム溶接、レーザービーム溶接等あらゆる溶接技術の習得及び研究開発、また疲労試験、摩耗試験、クリープ試験等の大型サンプルによるテストマシンの開発研究が行われており、溶接、接合、破壊・非破壊検査技術に時としてはヨーロッパはもとより世界の指導的立場の研究所である。

訪問した各研究機関での中堅的女性スタッフの多いことに感嘆しました。

以上、出席した会議及び訪問機関について簡単に報告させていただきました。

研修の間、多くの人と接し、その地の歴史・芸術・文化に触れることが出来たのも私にとって大きな収穫でもあり、日本を離れ自分の仕事について考える機会をいただいた事に深く感謝申し上げます。



IS所 SERGE PAYET 所長と訪問団一行



中村 嵩
主任研究員
専門：金属材料
機械加工

酵素の抽出と精製の実際

研究開発部 生物学担当 池本 重明

我々が微生物を使って何かものをつくりたい場合、微生物をそのまま利用できる時と、ある特定の酵素だけを使ったほうがよい場合がある。その酵素が市販されているもので間に合えばよいが、自分で単離・精製しなければならないことも多い。この微生物酵素の抽出と精製法について、実際に経験したことを基に解説したい。

昨年、京都大学食糧科学研究所に2カ月間派遣され、微生物酵素の抽出と精製について教わった。その研究室ではここ数年メチルグリオキサール (MG) の代謝系について種々の微生物について検討されており、今回その一部を培養の段階からやらせていただいた。本題にはいる前に、これら一連の研究の背景について解説しておきたい。

MGは解糖系のバイパスによって合成される2-オキソアルデヒドの一種で、ヒトを含めほとんどすべての生物に存在する。代謝産物でありながら非常に毒性が強く、生体では何種類かの系を経由して解毒される。最近MGが細胞の増殖をコントロールしていることが示唆されるようになり、がんの研究など各方面から注目されている分野である。

微生物酵素を抽出・精製する場合、まず、

- (1) 目的に合った微生物を検索する
- (2) 最適な培養条件を決定する
- (3) 酵素活性の測定法を確立する

について検討する必要がある。今回与えられたテーマは、酵母 *Hansenula mrakii* IFO0895を用いて、MGをアセトールに還元するアルデヒド還元酵素の精製である (図. 1)。この菌株はMGに強い耐性を示し、以前から当研究室でMGの代謝研究に用いられているものである。

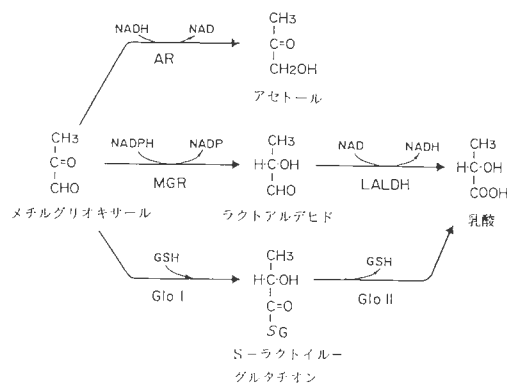


図. 1 *H. mrakii*におけるメチルグリオキサールの代謝経路A・R、アルデヒド還元酵素: MGR、メチルグリオキサール還元酵素: LALDH、ラクトアルデヒド脱水素酵素: Glo I、グリオキサラーゼ I: Glo II、グリオキサラーゼ II: GSH、グルタチオン

1. 培養条件

用いた培地は1%ブドウ糖、0.5%ペプトン、0.2%酵母エキス、0.03% K_2HPO_4 、0.03% KH_2PO_4 、0.01% $MgCl_2$ 、pH5.5で、30℃、16時間振とう培養した。今回はこのような条件で行ったが目的の微生物、酵素ですべて異なるものであり、酵素生産にとって重要な要因なので十分検討する必要がある。

2. 抽出と安定化

5ℓ培養し、遠心分離機で菌体を集めた。菌体の破碎法には種々の方法があるが、今回はダイノミルを用いた。詳細については成書¹⁾を参照してほしい。一般的には細菌が簡単で、酵母はより困難である。

最終的に遠心分離機で処理し、上清を細胞破碎液 (酵素抽出液) とする。この液がスタートになるので、容量、活性、タンパク量²⁾を測定しておく。

細胞内では安定な酵素も、外に出てしまうと失活する場合が多い。以下に注意事項をあげる。

- (1) 温度の問題、低温 (0~5℃) で処理する。
- (2) pHの問題、一般的には中性付近が安定で、今回は10mMリン酸緩衝液 (pH7.0) を用いた。
- (3) 濃度の問題、低濃度にすると失活しやすい。また泡立てても良くない。
- (4) 安定化剤の使用、酸化による失活を防ぐ (2-メルカプトエタノールなど)、プロテアーゼによる失活を防ぐ (フェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) など)、ほかにグリセロール、ショ糖なども効果がある。今回各種安定化剤の検討を行い、0.1mMPMSFと5%グリセロールの組合せが、最も効果があることがわかったので、緩衝液に添加した。

3. 精製

精製にはいる前に酵素活性の測定方法について述べる。この酵素は補酵素としてNADHが必要で、NADHがNADになるときの吸光度 (340nm) の変化で活性を測定することができる。基質には100mMのMGを用いた。また必要に応じて35%ホルムアルデヒドも使用した。これらの操作には分光光度計のほかに、10μℓや100μℓといったような量を正確に測ることができるピペットマン (ギルソン製) のようにマイクロピペットがあると便利である。

酵素の精製には、まず種々の性質の異なったカラムクロマトグラフィーを、うまく組み合わせて行うとよい。今回用いた担体を順に示す (図. 2)。考え方としては、最初おおざっぱに分けてだんだんと的をしぼっ

ていくやり方である。吸着型のカラムを何本か通し、最終的にセファデックスのような分子の大きさで分けるカラム（ふるい型）を使用する。今回あまり効果的ではなかったが、ブルー セファロースCL-6Bのような、酵素の特異的な親和性を利用したアフィニティクロマトグラフィーも有効な場合が多い。

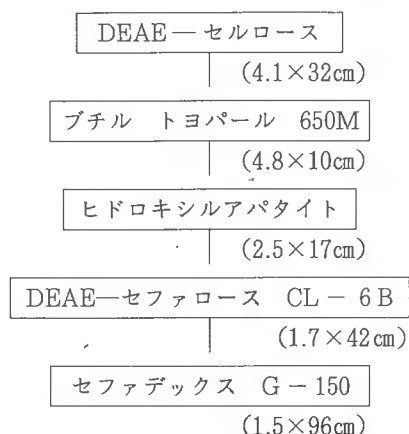


図2. 精製に用いたカラムクロマトグラフィー
(カッコ内はカラムの大きさを表す)

具体的な実験法については、紙面の関係ですべてを記することはできないので、DEAE-セルロースカラムを中心に述べたい。

酵素の精製は、手とり早く処理していくことが大事で、細胞破碎液が得られたら、すぐにカラムにかけられるように準備しておかなければならない。低温室に図.3に示したような器具、装置を用意する。細胞破碎液を担体に吸着させ、塩濃度を順次変えていく（グラジエント）ことによって酵素を分ける方法である。フラクションコレクターは10mlずつ分注できるようにしておく。そのスピードは夜帰るまえにセットして、次の日の朝に出終わっているぐらいがよい。すぐに活性を測定する。最初10本おきに測り、活性のある付近はもう少し細かく測定する。

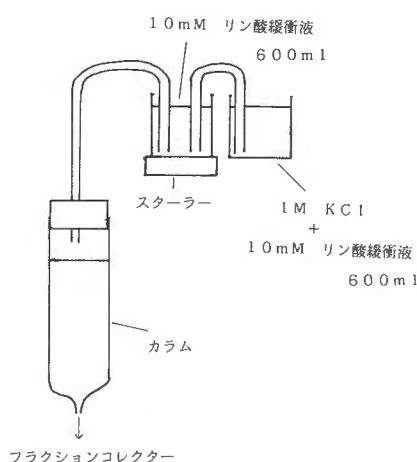


図3 DEAE-セルロース カラムクロマトグラフィー

またグラジエントの状態を把握するために、5本おきに伝導度を測定しておく。さらに、おおまかなタンパク量を知るために280nmの吸光度も測定する。それらを図.4に示した。活性のある部分を集め、容量、活性、タンパク量をチェックして次のステップに進む。

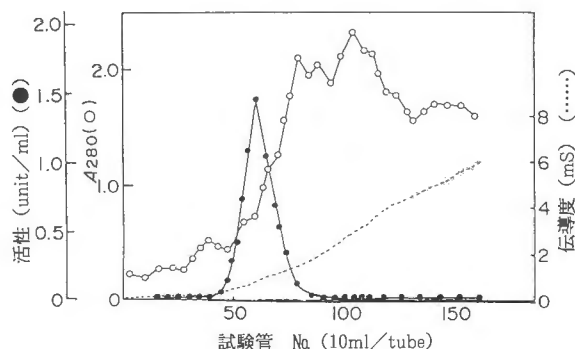


図4 DEAE-セルロース カラムクロマトグラフィーによるメチルグリオキサール還元活性の溶出パターン

次のカラムにかけるときに、濃縮を行う必要がある。この操作は限外濾過により行った。用いたのはアミコン製の限外濾過装置で、酵素液を圧力セルの中に入れ、窒素ガスを3気圧ほどかけることにより、水を膜外に押し出す方式である。このとき濃縮がうまくいっているかチェックするため、出てきた水についても活性を調べておく。

このような操作を繰り返し、最終的に電気泳動にかけ、単一のバンドが得られれば、精製がうまくいったということになる。今回研修期間中にはその段階までいけなかったが、その後も研究室で検討を続けられ、液体クロマトグラフィーを用いてかなりのところまで精製することができた³⁾。

最後に今回の研修で大変お世話になりました京都大学食糧科学研究所の木村 光教授、井上善晴助手に感謝します。

文 献

- 1) 日本生化学会編：酵素研究法上（生化学実験講座5）。東京化学同人.P173（1975）
- 2) Lowry.O.H.,Rosebrough.N.J.,Farr.A.L.. and Randall.R.J. : J.Biol.Chem.,193., 265（1951）
- 3) Inoue.Y. : Ikemoto.S.,Kitamura.K..and Kimura, A. : J.Ferment.Bioeng.,74,46（1992）



池本重明
研究員
専門：応用微生物

(株) 駿 河 屋

総本家駿河屋は、創業が寛正2年(1461年)わが国でも屈指の和菓子の老舗です。現在では、生菓子、焼き菓子、洋菓子、ゼリー等々、幅広く製造販売しています。伝統を守りながらも、時代のニーズに即した製品開発をいかにしているのか、和歌山市小倉にある本社工場をご紹介します。

研究体制は、製造部取締役部長 高橋氏始め技術次長2名、研究員3名、他デザイン企画担当4名からなっています。新商品開発は、若年層と年輩層では甘味にたいするとらえかたがはっきりと異なるため、従来の味を残しつつ、若年層をターゲットとした商品の開発が必要であり、デザインやネーミング、原料配合の工夫等実戦的な取り組みに苦労もあります。基本的に添加物を使用しない方針であり美味しくいただくための期間設定等や品質管理にも充分配慮しています。今まで機械化するあまり材料配合等機械にあわせていたものをこの時期になって手づくりに戻すべく要望も高くなり、ハード面(機械化)とソフト面(手づくりの良さをだす)の潤滑油的役割をこなすのも研究室の使命です。

「飽食の時代」に消費者のニーズは、高品質であたりまえ、おいしくてオリジナリティーのあるものを要求しています。原材料の吟味は勿ろんのこと高い技術、そして美味しい状態で届けたいという考えから工場直送の低温配送システムも取り入れました。「大量生産できることがヒット商品であるとは考えておらず少量であっても消費者の要求するものをタイムリーに提供できればヒット商品であろうと思います。その意味で各地より引合いのある工場直送低温配送システムはヒット商品ですね。」とは高橋部長の弁。



「嗜好品の菓子を通じて、心に和(なごみ)のある豊かな人間らしさと実りある社会生活に寄与したい。」という考えのもとエコロジーにも着目し、自然と共有する新しい紙「菓紙」の開発に成功しました。総本家駿河屋では年間約230トンの小豆を使用、同約26トンの小豆の皮「あんかす」が発生します。そこでこの「あんかす」を紙の原料として使用することにより、従来のパルプの使用量を約30%カットすることが可能となりました。これを機に省資源、環境保全などの面で少しでも役立てたい。「菓紙」については菓子業界、書道家、各界から問い合わせがあります。



製造部取締役部長 高橋一美氏

「羊羹はさおもののかたちをしています、形にこだわる事なく一新していけたら・・・。」と述べられたとおり、食品関係の新商品開発は難しいかもしれませんが、老舗の評価は古い伝統から今や良い商品の置いているところ、消費者の評判の良いところへと取って変わろうとしています。

受け継がれた「技」と「味」、伝統の価値と共に新しい老舗、新しい菓子創りに期待いたします。

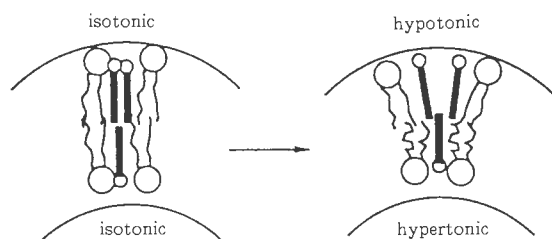
会社プロフィール

創 業	寛正2年6月(1461年)
設 立	昭和19年3月(1944年)
資本金	5億3,000万円
代表者	代表取締役社長 岡本文之助
業務内容	和洋菓子の製造販売及び喫茶経営
本 社	和歌山市駿河町12番地 T E L (0734) 22-1151 F A X (0734) 32-3702
支 店	大阪、東京、京都、和歌山、福岡
工 場	和歌山、大阪、京都、東京

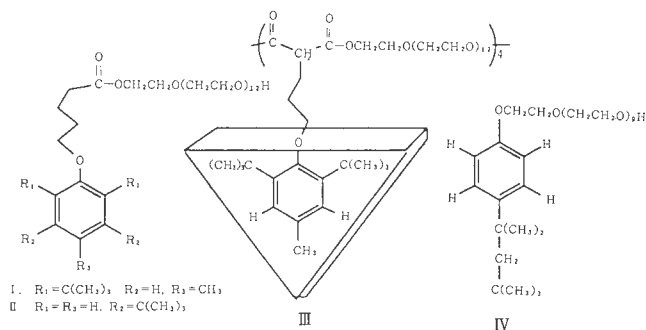
(山西紀早子)

分子のもり

生体膜において、浸透圧を認識するようにデザインされた膜破壊界面活性剤についての興味深い報告が、アメリカのLehigh大学のS.L.Regenら (J.Am.Chem. Soc., 114, 4011 (1992)) によってなされたので紹介します。



たとえば、リン脂質とコレステロールからなる脂質膜は膜の両側において等張下である状態から、イオン濃度の差ができると、液泡が膨潤状態となり浸透圧のかかった状態となる。このことは、膜の外表面における脂質の炭化水素部（疎水部）の露出を引き起こすことになる（図1）。このとき、親水性の鎖に硬い、くさび型の疎水性の部位が結合した分子構造をもつ膜破壊界面活性剤が脂質2重層の浸透圧を認識することになり、外表面から優先的に挿入が起こると、彼らは考えた。浸透圧の認識は“鈍い先端”を持つ分子は、等張下では立体的に挿入が困難であるためと考えられた。このような分子を彼らは、“Molecular Harpoons”と名付けた。



まず、彼らは、その原型としてI-IIIの界面活性剤を合成した。膜破壊界面活性剤として広く用いられているタイプであるIV（トリトンX-100）と比較した。IとIVは、0から13.8atmの浸透圧の増加で、2倍程度の膜破壊能力の向上が認められたのみであった。それに対して、鈍い先端を持つIIは浸透圧に対して高い感度を示し、同じ圧力の変化で、100倍以上の能力の向上が認められた。また、IのオリゴマーであるIIIは予想以上に圧力認識を示した。これは、IIIが膜表面において、分子内での疎水部の会合とペンダント基の膜への挿入の競争が生じ、等張下では前者が、膨潤状態では後者が優先的に起こるものと考えられた。

このような“分子のもり”は、適当な浸透圧を持ったバクテリアをはじめとする微生物、たとえば、非常に湾曲した外膜をもつエイズウイルスに対する攻撃に有用となるかもしれない。

（野村 英作）

ながめてみよう、ちょっとよこから

大抵のオフィスや研究室には、コンピュータがころがっている。コンピュータもプログラムがなければただの箱である。わが家のパソコンも娘が時折ゲームをする程度で、埃を被ったただの箱に近い様である。では、埃を払ってちょっと横から覗いてみよう。

プログラムはどんな言語で書いてもコンパイルと言う手続きによってH/L（1/0）信号の組合せから成る機械語命令に変換される。機械語命令はバイトと言う単位でメモリに書き込まれ、逐次CPUに取り込まれて実行される。機械語命令には1バイトで意味を持つものや次の1バイトと併せて2バイトで意味を持つもの、また3バイト必要な命令や次のバイトを数値と見

る命令等がある。1バイトとはH/Lの信号を現わすビット8個の集まりで、アスキーコード等を用いて文字を表現することも、また0～255の数値を現わす事も出来る。

メモリにはアドレスが順番に付られてあり、機械語命令やデータをバイトの列びとして格納する箱の様なものである。また変数の値もこの中に格納される。

さて、

$$a = 123$$

$$b = a$$

と書かれたプログラムはどの様にコンパイルされて実行されれば考えてみよう。1行目は変数aに123と

言う値を代入する事であり、2行目は変数bに変数aの値を代入する事である。変数aおよび変数bの値を保持するためにメモリが使用される。仮に変数aが1000番地に、変数bが2000番地に割付られたと仮定しよう。1行目は1000番地に1 2 3と言う値を格納する事であり、2行目は1000番地の内容を読みだして2000番地に格納する事である。変数aに値が代入される度に1000番地の内容は更新されるが、格納場所1000番地は変数aが有効なかぎり変化しない。すなわち、乱暴な表現をすれば変数aとは1000番地のメモリのことであり、変数の値とは1000番地に格納されている1 2 3であると言える。変数をメモリに割り付けるのがコンパイラの仕事であり、プログラマには番地の指定はできない。さて、このプログラムがフォートランやベーシック言語で書かれていたならば、変数aやbの割り付けられた番地でさえ、プログラマはもちろん、プログラム自身でさえ知る事ができない。

しかしながら、フォートランやベーシック言語でのプログラミングにおいてこの事はまったく問題とはならない。フォートランやベーシックでは変数の値が問

題であって、変数がどこに割付られようがまったく無関心である。

ではプログラミングにはアドレスを考慮する必要があるかと言うとそうでもない。アドレスを扱うオブジェクトとしてC言語のアドレス演算子とポインタがある。アドレス演算子で変数を演算するとその変数が割り付けられたアドレスが得られる。またポインタは変数であり、自分自身を含む色々な変数等のアドレス値を保持する。ここで間違い易いのがポインタと間接演算子*を用いたポインタの演算である。

たとえば変数aが1000番地に割り付けられていて、その値が1 2 3であるとき、ポインタ変数pにアドレス演算子を用いて変数aのアドレスを代入したとしよう。変数pの値は1000であるとき、間接演算子*を用いてポインタpの演算を行なうと1 2 3と言う値が得られる。すなわちpが1000であり*pが1 2 3である。ポインタの有効な利用法としては色々あるがC言語の解説ではないのでここでは論じない。思いつくまま書いてみたので結論は無いが何かの参考になれば幸いです。

(新山 茂利)

<新人紹介>

勤務にあたって

総務課 中村 浩 規

11月1日付で、和歌山県工業技術センターの総務課に現業員で採用が決まり、お仕事をさせていただいております。

私は、高校を卒業して、滋賀県にある三ッ星という会社の電線事業部において機械操作をしておりました。そのことが役に立つかわかりませんが、皆様の御指導のもと、頑張って努めていきたいと思っておりますので、そのせつは宜しく願いいたします。



プロフィール

平成3年3月 和歌山東高等学校卒業

平成4年11月 和歌山県工業技術センター入所

趣味 バスケットボール、スキー、ドライブ

編集後記

最近、溶接技術分野で取扱う材料・プロセスが高度化・多様化しています。

本誌では、スペインを中心とした「最近のヨーロッパにおける金属接合・評価技術に関する調査」を取り上げました。

また、微生物酵素を抽出・精製する場合、「目的に合った微生物を検索する。最適な培養条件を決定する。酵素活性測定を確立する」について検討する必要があると思われる。

(下林)

表紙写真：ノマルスキー微分干渉顕微鏡によるメチルグリオキサール耐性を示す酵母*H.mrakii*の観察。(×480)

平成4年11月25日印刷 平成4年11月30日発行

TECHNORIDGE 第191号

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 (0734) 77-1271 FAX (0734) 77-2880
皮革分場

和歌山市雄松町3丁目45番地

TEL (0734) 23-8520 FAX (0734) 26-2074

印刷所 阪口印刷所