

平成11年度

高知県工業技術センター研究報告

REPORTS OF
KOCHI PREFECTURAL INDUSTRIAL TECHNOLOGY CENTER

No.31 (2000)

平成12年11月

高知県工業技術センター

目 次

技術第 1 部

- 1 環境浄化機能を有する内装材の開発 (第 1 報) 1
市販二酸化チタンフィルターの性能調査および評価技術の開発
- 2 金属表面処理技術に関する技術指導 (第 5 報) 7
～無電解 Ni めっき皮膜特性について～
- 3 下水汚泥焼却灰を用いたカラーコンクリート製品の開発 11

技術第 2 部

- 4 魚肉水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の性質並びに単離精製 17
- 5 魚肉の戻り発現型に応じたねり製品製造法の開発 25
- 6 地域資源の高度利用に関する研究 (第 1 報) 31
機能性 (抗アレルギー性、抗変異原性、脂質代謝改善) を有する資源の検索
- 7 白糖を原料とした乳酸飲料の機能性について 51

技術第 3 部

- 8 効率的生産技術による高品質鋳造品の開発 (第 1 報) 57
- 9 無線 LAN による情報コミュニティシステムの設計・構築 61
- 10 魚の鮮度変化に関する研究 (第 2 報) 67
－簡易鮮度測定法の検討－

技術第 4 部

- 11 樹木抽出成分の高度利用に関する研究 71

技術開発産学官連携促進事業

- 12 石灰系酸性ガス固定化材の開発 (第 1 報) 75
固定化材の材料設計
- 13 デジタルエンジニアリングデータの共有と利用技術 79
部品設計データと計測結果に基づく加工データの自動生成

技術指導施設補助事業

- 14 超音波による簡易溶接部検査装置の開発 87

地域コンソーシアム研究開発事業

- 15 *Mirror-Surface Finishing of CVD Diamond Film by ELID Grinding* 89

技術 第 1 部

環境浄化機能を有する内装材の開発（第1報）

市販酸化チタンフィルターの性能調査および評価技術の開発

河野敏夫 野津昭二* 関田寿一

*Optimization of the Air Purifier Inserted
TiO₂ Coated Filter (Part 1)*

*Performance Test and Development of Estimation Technique of
TiO₂ Coated Filters on the Market*

Toshio KONO Shoji NODU Toshikazu SEKITA

県内企業で生産されている空気清浄機の性能向上、最適化を目的として、市販されている酸化チタンを含むフィルターの性能調査、およびフィルターの悪臭物質分解性能の評価方法に関する技術開発を行った。

紫外線の照射によって悪臭物質の分解性能に顕著な差が見られるフィルターは7社中2社であった。また、分解性能を評価するにあたり、循環型の評価装置を試作した。

1. 目的および背景

本研究では、市販されている酸化チタンを用いたフィルターの機能評価、およびその結果に基づく空気清浄機の最適化を図ることを目的とする。

アナターゼ型の酸化チタンは、紫外線等400nm以下の波長の照射によって強い酸化電位を発生し、空气中に存在する悪臭物質を分解する光触媒として機能する。この光触媒機能に着目し、県外各社が環境浄化用素材としての開発研究を行っている。これらの研究の結果、酸化チタンを用いた空気清浄用フィルターが各社から販売されはじめ、機能評価を含めた応用研究へと推移し始めている。

アイケン工業(株)では、早くからこの酸化チタンの光触媒機能に着目し、すでにタバコ消臭用空気清浄機の製造・販売を行っていることから、共同でその最適化、機能評価技術の開発に関する研究を行うこととした。

2. 実験

2.1. 分解性能評価試験

酸化チタンを用いた空気清浄機の最適化を目的と

するため、アセトアルデヒド(タバコ)を評価対象候補とした。各フィルターの分解性能による濃度変化は、検知管方式(～300ppm)によって測定した。

各社フィルターの分解性能を比較し、その結果の優秀なものに対して種々の要因(紫外線強度(ランプ本数、ランプからの距離)、圧力損失等)を変化させた実験を行うこととして、以下の方法によってフィルターの分解性能試験を行った。

- ① 内容積約54Lの光触媒機能評価装置を作成した。(図1、2)

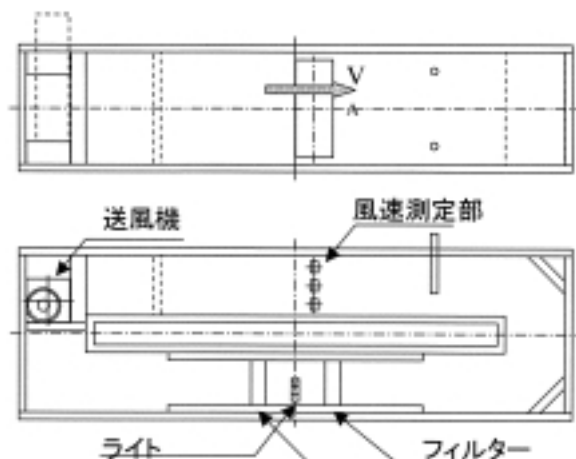


図1 試作した評価装置（内面図）

技術第1部

*アイケン工業(株)

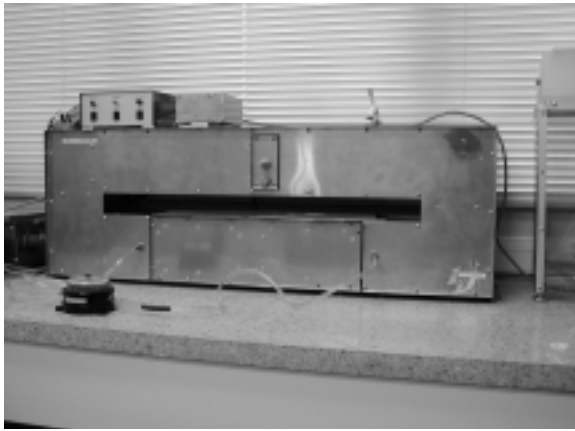


図2

- ② 光源として3本のブラックライトを使用し、光源とフィルターとの距離を2cmに設定した。(松下電器産業製：ブラックライト FL6BL-B)
- ③ 光源の前後に1枚ずつ、計2枚のフィルターを設置した際の圧力損失が2.4mmH₂O (Aは1.2mmH₂O) となるように風速を調整した。その際の電圧は表中に記している。
- ④ 試験室の室温を25℃に設定し、装置内の空気を循環送風させた。(UVはOFF)
- ⑤ バイアル瓶(10ml容)に封入したアセトアルデヒドのガス化した部分10ccを、シリンジ(ニプロ：ディスポーサブルシリンジ、30cc容)にて装置に注入した。
- ⑥ アセトアルデヒドを装置内に均一に拡散させるため、注入後、15分間送風し、検知管にて装置内のアセトアルデヒド濃度を測定した。(検知管：GASTEC, アセトアルデヒド用、2~300ppm)
- ⑦ 注入15分後を0分として、経時的に装置内のアセトアルデヒド濃度を測定した。
- ⑧ フィルターへの吸着量が飽和になったのを確認した後、UVを照射した。(10分間隔で3回、アセトアルデヒド濃度を測定し、濃度の減少が認められないことを確認した。)
- ⑨ 経時的にアセトアルデヒド濃度を測定した。
- ⑩ 試験終了後、サンプリング孔の栓を抜き、活性炭フィルターを通して排気した。
- ⑪ フィルターに吸着したアセトアルデヒドは100℃の乾燥器を、装置内部に吸着したアセトアルデヒドはドライヤーを用いて除去した。

2.2. フィルターのキャラクタリゼーション

技術調査の結果、二酸化チタンを用いたフィルターを製造するメーカー7数社(A~G社)から、技術資料

およびサンプルの提供があった。各社フィルターについて、構造的な特性、材質を評価するために、BET比表面積測定および走査型電子顕微鏡(以下SEM)による微細構造観察を行った。

3. 結果および考察

3.1. 各社フィルターの分解性能

各社フィルターによるアセトアルデヒド分解の時間変化を図3に示す。図3中、各分解曲線の白ヌキの地点から紫外線照射を開始した。(E社製フィルターに関しては、フィルターの吸着能が著しく高く、⑤の条件では検知管でアセトアルデヒドを検知できないため、アセトアルデヒドを120cc注入した。)

紫外線照射後のアセトアルデヒドの濃度変化が顕著に認められるものは、D社およびE社製のフィルターのみであった。このことから、以後の諸条件の変更による分解特性評価の対象は、D社およびE社製のものと限定した。

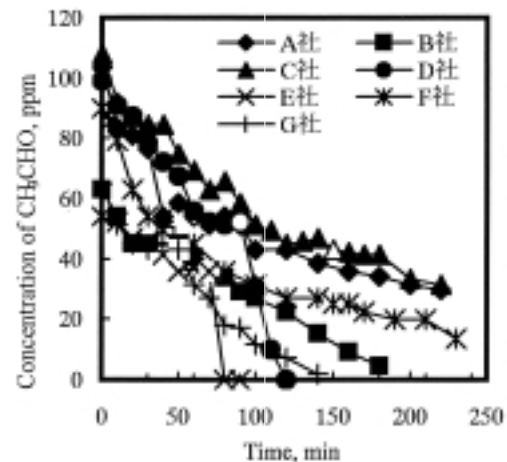


図3 各社フィルターのアセトアルデヒド分解挙動

3.2. D社製フィルターについて

D社製フィルターは、テフロン繊維を網状に織ったメッシュ構造を持ち、その繊維中に織り込む形で二酸化チタン粒子が担持されている(図4)。BET比表面積測定の結果、5.6m²/gであった。他社のフィルターと比較して空気の流れる方向に対する長さが短く、圧力損失が低い特性を持つ。またこのメッシュは粗いものと細かいものの二種類を入手した。

図5、6にD社製フィルターの分解実験結果を示す。図5、6中でOLDとは実験の期間中にメーカー側から新しいフィルターの供給があったため、古い方のフィルターのことを示す。またS、Lはそれぞれメッシュの細かいもの、粗いものを指す。相対的に新しいフィルターが良好な分解曲線を示す傾向が見られ、どの

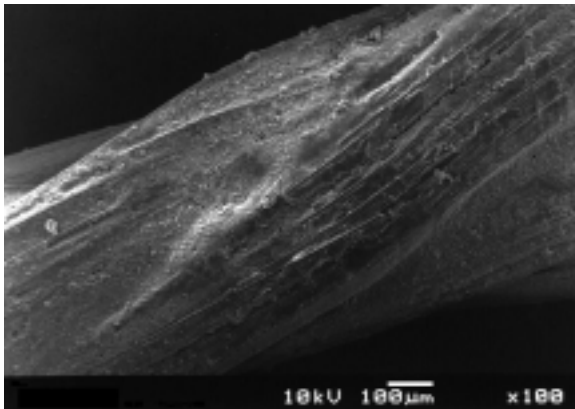


図4

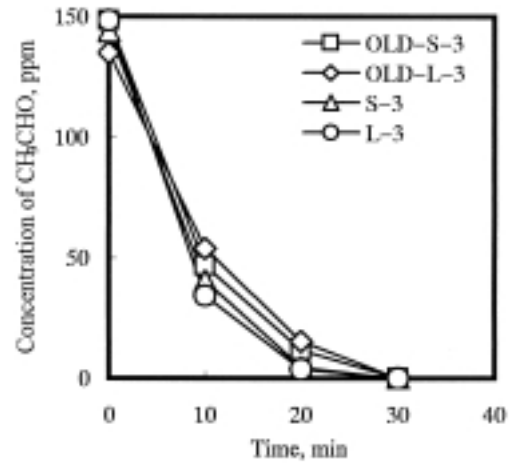


図5 D社製フィルターの分解曲線

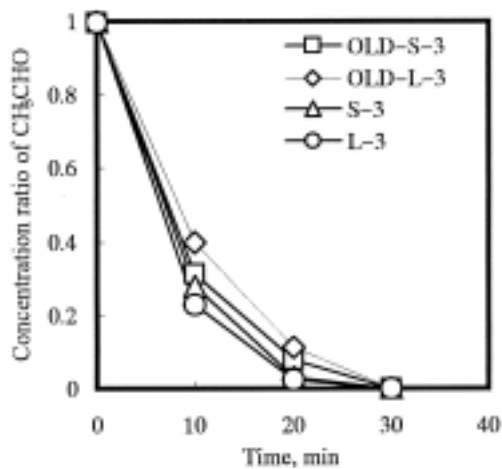


図6 D社製フィルターの分解曲線(比率表示)

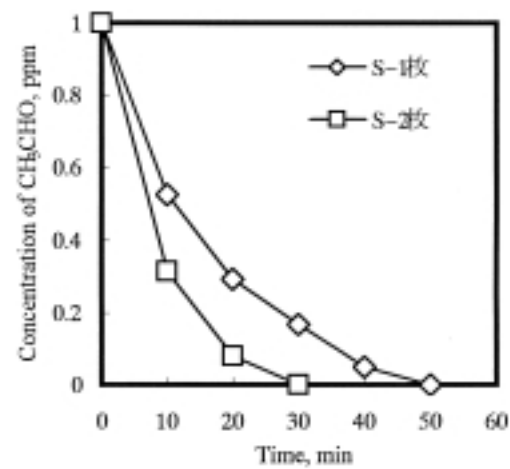


図7 フィルター枚数の影響

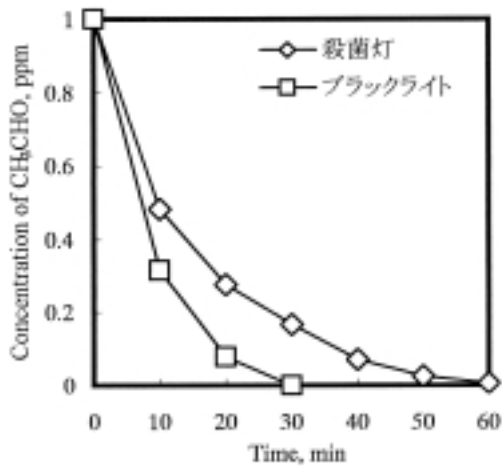


図8 ライト種類の影響

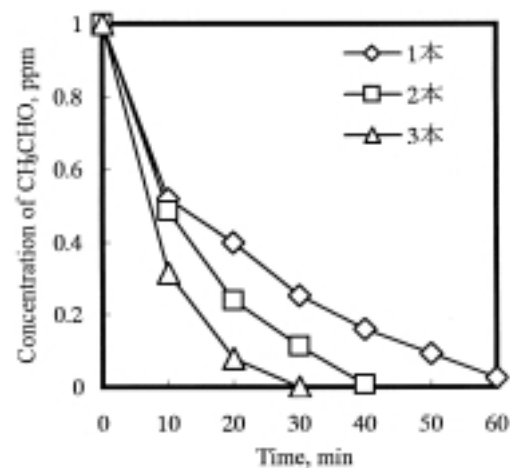


図9 ライト本数の影響

フィルターにおいても30分間のUV照射でアセトアルデヒドは消滅した。

次に、フィルターの設置枚数、ライト種類(殺菌灯、ブラックライト)、ライト本数、圧力損失、フィルターのライトからの距離をそれぞれ変化させて、アセトアルデヒドの分解試験を行った結果を図7~11に示す。なお用いたフィルターはメッシュの細かいものを三枚組で型枠にセットしたものをを用いた。

図7から、フィルターの枚数(光触媒として機能する二酸化チタン量)が多い方が分解効率が良い結果が得られた。また、図8から殺菌灯よりもブラックライトの方が良い分解効率を示すことから、殺菌灯の有効波長領域(253.7nm)よりもブラックライトの有効波長領域(350~400nm)で光触媒機能はより発揮されるものと考えられる。図9からはライト本数の多い方が分解効率の良い傾向が得られ、図10からフィルター

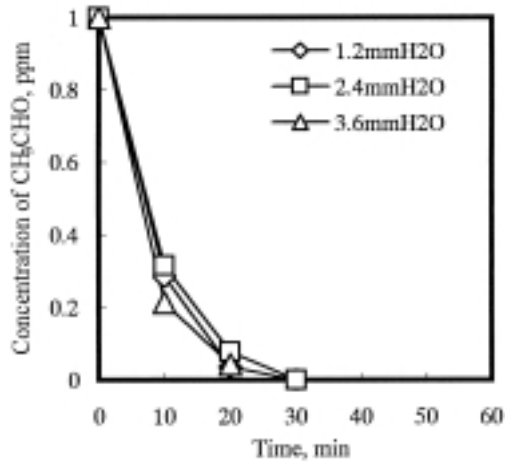


図10 圧力損失の影響

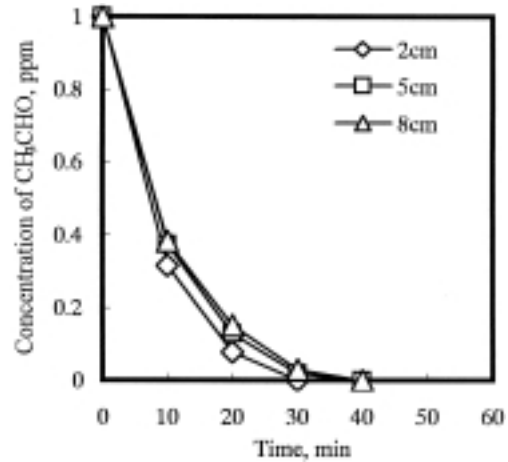


図11 ライトからの距離の影響

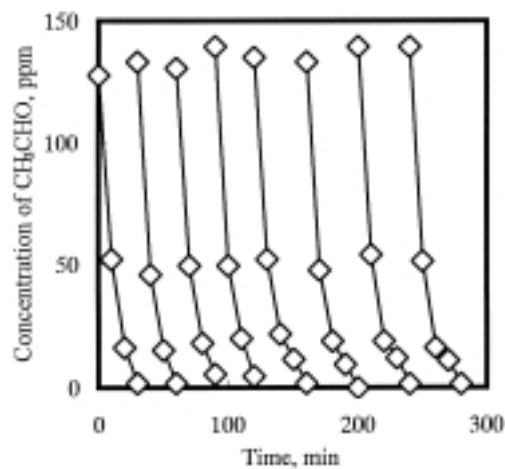


図12 繰り返し試験結果

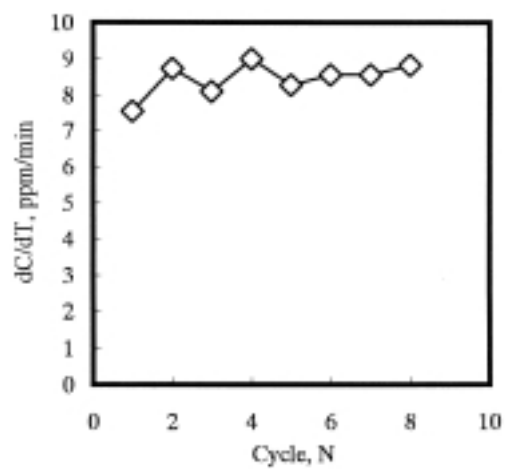


図13 分解速度の変化

とライトの距離が短い方が若干良い分解効率を示している。図11でフィルターに実際に照射された紫外線強度は、それぞれ1本(3.6mW/cm²)、2本(4.6mW/cm²)、3本(8.8mW/cm²)であり、図11でフィルターに実際に照射された紫外線強度は、それぞれ2cm(8.8mW/cm²)、5cm(6.6mW/cm²)、8cm(4.3mW/cm²)であることから、紫外線強度を指標として考察すれば、ライトからの距離よりも本数によって分解効率は良い傾向を示すと言える。即ち、ライトからの紫外線が効率的に(陰にならずに)照射されることによって分解効率は良い傾向を示すと考えられる。最後に、図10に示す圧力損失について、1.2~3.6mmH₂Oの間では顕著な差は見られなかった。

次に、D社製フィルターの繰り返し分解試験による変化、いわゆるメモリー効果について測定を行った(図12)。

繰り返し試験では、前回の試験において、アセトアルデヒド濃度がゼロになったことを確認してから、UVの電源をオフにし、再度アセトアルデヒドを装置内に注入し、15分後にUVを点灯し再度分解試験を実

施、合計8サイクルの分解試験を行った。図12から、8サイクルの試験ではメモリー効果は見られず、注入したアセトアルデヒドを効率的に分解していることが分かり、5サイクル以降では、20ppm以下の低濃度において若干分解速度が低下する傾向が見られる。しかしながら、図12中の各サイクルで最初の分解評価となる0~10分間の分解速度(dC/dT: 0~10分間の濃度変化量を時間で割ったもの)を各サイクル毎にプロットすると(図13)、高濃度領域での分解速度は低下していないことが分かる。

3.3. E社製フィルターについて

E社製フィルターは、薄片のアルミニウムを段ボール状に成形し、その表面にシリカ系の無機接着剤を用いて活性アルミナを担持し、その表面に二酸化チタンをさらに担持したものである(図14)。BET比表面積測定の結果、52.3m²/gであった。

このフィルターは、活性アルミナを用いている影響で初期の吸着量が非常に多く、他のフィルターと同様の10ccのアセトアルデヒド投入量では、15分間循環

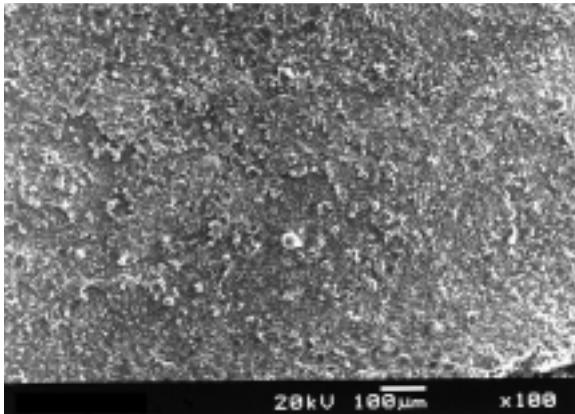


図14

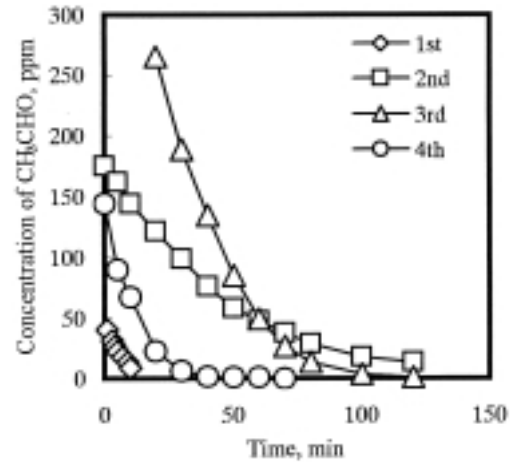


図15 吸着影響試験結果

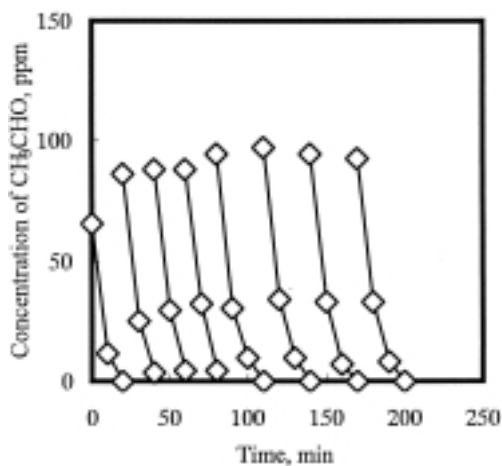


図16 繰り返し試験結果

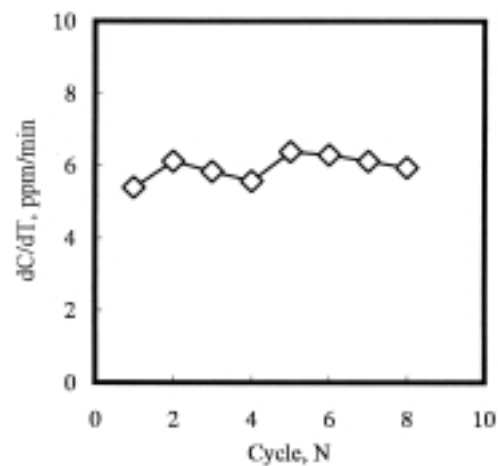


図17 分解速度の変化

操作後の濃度が検出されなかったため、初期の打ち込み量を120ccとして、分解試験を繰り返し行ったところ、4回目以降からは、30ccの打ち込み量で初期濃度が安定した(図15)。

E社製フィルターについてもD社製フィルターと同様に、メモリー効果について測定を行った(図16)。

E社製フィルターに対する繰り返し試験では、前回の試験において、アセトアルデヒド濃度がゼロになったことを確認してから、UVの電源をオフにし、再度アセトアルデヒドを30cc装置内に注入し、15分後にUVを点灯し再度分解試験を実施、合計8サイクルの分解試験を行った。図16から、8サイクルの試験ではメモリー効果は見られず、注入したアセトアルデヒドを効率的に分解していることが分かり、5サイクル以降では、10ppm以下の低濃度において若干分解速度が低下する傾向が見られる。しかしながら、図16中の各サイクルで最初の分解評価となる0~10分間の分解速度(dC/dT: 0~10分間の濃度変化量を時間で割ったもの)を各サイクル毎にプロットすると(図17)高濃度領域での分解速度は低下していないことが分か

る。

4. まとめ

アイケン工業(株)で生産されている空気清浄機の最適化を目的として、市販光触媒フィルターの悪臭物質分解性能について検討した結果を以下にまとめる。

- 1) 7社から光触媒フィルターの提供を受けたが、本研究で試作した光触媒機能評価装置による測定では、DおよびE社製のフィルターのみが効果的な光触媒機能を発揮した。
- 2) フィルター枚数は多い方、殺菌灯よりもブラックライトが効果的である。
- 3) 分解性能には、紫外線の照射強度よりも照射面積が有効である。
- 4) 圧力損失については、1.2~3.6mmH₂Oの間では顕著な差は分解性能に見られない。
- 5) 繰り返し試験では、D、E社製フィルターとも良好な傾向を示し、メモリー効果は認められない。
- 6) E社製フィルターは、吸着性能が特に優れる。

金属表面処理技術に関する技術指導（第5報）

～無電解 Ni めっき皮膜特性について～

竹内 宏太郎

Technical Consulting about Metal Surface Treatment (Part5)

Characteristic of Non Electrolysis Ni Plating

Kotaro TAKEUCHI

現在、工業的に硬質クロムめっきが広く用いられている。しかし、クロムは有害物質であり、厳しい規制や管理下に置かれており、また、めっき作業従事者の作業環境を考慮しても、あまり好ましくない。そこで昨年度は、硬質クロムの代替品として、硬度および耐摩耗性を付与するために、無電解 Ni 合金めっきに、第3元素を添加し、その皮膜特性について検討を行った。しかし、物性は硬質クロム同等であったが、外観に問題があった¹⁾。本研究では、外観が悪い原因を把握し、第3元素添加の割合を調整することにより、硬質クロム同等の物性や表面の光沢が得られる事が確認できた。

1. はじめに

現在、工業的に広く用いられているめっきに無電解ニッケルリンめっき（以下、無電解 Ni-P めっき）がある。無電解 Ni-P めっきは電源を用いることなく、次亜リン酸ナトリウムを還元剤として、化学的還元作用によりめっきをする。また、皮膜の特性は硬度や耐摩耗性に優れており、熱処理によって、さらにその特性は向上することがわかっている。

この無電解 Ni-P めっきに第3元素タングステン（以下 W）、モリブデン（以下 Mo）を添加するとさらに皮膜特性が向上するとの報告がある²⁾³⁾⁴⁾。これらのめっき皮膜は Ni と W または Ni と Mo を共析させて、無電解 Ni-P めっき皮膜よりも硬度、耐摩耗性を向上させている。

本研究では、昨年に引き続き、無電解 Ni-P めっき皮膜の P 含有率を 8～10% と一定にし、W と Mo の含有率の異なる試料を作成し、それぞれの表面状態について検討をした。

2. 実験方法

2.1. 供試体

ハルセル試験用鉄板(100mm×67mm×0.4mm)の表面に付着させている防錆亜鉛を塩酸で溶解し、水洗した後、母材として用いた。

めっき槽には 1 L ビーカーを、めっき浴の温度調整

は電気ヒーターを、撪拌には回転子を、治具はステンレス製の針金を用いた。また、表に無電解めっきのそれぞれの浴組成およびめっき条件³⁾⁵⁾を示す。

無電解 Ni-P に、Mo を共析させためっき（以下 Ni-Mo-P めっき）はクエン酸やモリブデン酸ナトリウム濃度を变化させ、P 含有率 8～10% で光沢があり、Mo 含有率 3.8%、5.6%（以下 Mo3.8%、Mo5.6%）の供試体を得た。

無電解 Ni-P に、W を共析させためっき（以下 Ni-W-P めっき）はクエン酸濃度やタングステン酸ナトリウム濃度を变化させ、P 含有率 8～10% で光沢があり、W 含有率 5.6%、10.6%（以下 W5.6%、W10.6%）の供試体を得た。

Table Bath composition and operating conditions for plating

	Ni-Mo-P	Ni-W-P
NiSO ₄	7 g/L	
Sodium Citrate	50~70g/L	40~73g/L
NaPH ₂ O ₂	20g/L	8g/L
Glycolic Acid	15.3g/L	—
Na ₂ MoO ₄	0.4~0.6g/L	—
Na ₂ WO ₄	—	33g/L
pH	9.0	5.5~9.0
Bath temperature	90℃	
Bath pH5.5-9.0 adjusted with NaOH and H ₂ SO ₄		

2.2. 熱処理

電気炉（ADVANTEC 製 KT-1702V）で、皮膜の酸

化を防ぐため Ar ガス雰囲気中、400℃で2時間保持した後、室温まで炉冷し、試料とした。

2.3. X線回折

X線回折装置(株)マックスサイエンス製 MPX-18、以下 XRD)を用いて、皮膜の結晶状態について観察を行った。

2.4. 表面観察

表面観察には、走査型プローブ顕微鏡(日本電子(株)製 JSPM-4200、以下 SPM)を用いて、皮膜再表面の平滑度、粒子形状の観察を行った。

3. 結果および考察

3.1. X線回折

X線回折結果を図1に示す。

熱処理無では、Ni-P 皮膜、Mo 含有皮膜、W5.6% 皮膜についても、微晶質であることが確認できる。Mo5.6%、W5.6%については、金属 Ni の回折ピークらしきピークが存在する。W10.6%では、明確な金属 Ni の回折ピークが存在する。このことからW含有皮膜、Mo 含有皮膜ともに含有率が高くなると、微晶質がベースであるが、一部金属 Ni として析出する事がわかった。

400℃で熱処理を施した場合、W10.6%を除く全ての試料に関して、無電解 Ni-P 皮膜の熱特性である、Ni₃P の生成を回折ピークで確認することができた。W含有皮膜は、含有率が高くなるほど、Ni₃P の生成

が少なくなり、Mo 含有皮膜は含有率が高くなるほど Ni₃P の生成が多くなることが確認できる。

外観は Ni-P に近い方が良いので、W含有皮膜は含有率が低いほど良く、Mo 含有皮膜は含有率が高いほど良いと考える。

3.2. 表面観察

表面観察写真を図2に示す。

熱処理無の場合、Ni-P 皮膜は平滑で、外観も光沢がある。W含有皮膜は含有率が高いほど、粒径が細かくなっているが、全体の平滑度は劣ることがわかる。また、Mo 含有皮膜は含有率が高くなるほど粒径が大きくなり、平滑度も劣っている。

400℃で熱処理した場合、Ni-P 皮膜は平滑で、光沢もある。W含有皮膜は粒径が細かくなり、平滑度も同等で、含有率が低いほど、外観は良い。

また、Mo 含有皮膜は、粒径が大きくなるが、平滑度は良くなる。ただし、外観は悪くなる。

外観を考慮すれば、粒径が細かく、平滑度の高いものが良い。

以上のことからW含有皮膜は、含有率が低いほど平滑度は高く、外観に関しても良いと考えられる。また、第3元素の含有率が高くなるほど、熱処理を施すと外観が悪くなる。

4. まとめ

本研究で以下のような結果が得られた。

- (1) 熱処理を施さない場合、第3元素の含有量が多ければ、皮膜に金属 Ni 単体が析出し、平滑度も余り良くない。
- (2) 熱処理を施した場合、W含有量は少ないほど、Mo 含有量は多いほど平滑度は良くなる。
- (3) 前年度の結果の硬度・耐摩耗性もふまえて、クロム代替めっきとしては、熱処理を施したW低含有皮膜が一番適している。

5. 参考文献

- 1) 高知県工業技術センター研究報告, 1998, 101-104
- 2) めっき技術ガイドブック(東京鍍金材料協同組合技術委員会), 1984
- 3) 無電解めっき(槇書店), 1990
- 4) 無電解めっきの応用(槇書店), 1991
- 5) 21世紀に向けてのめっき技術(全国鍍金工業組合連合会), 1994

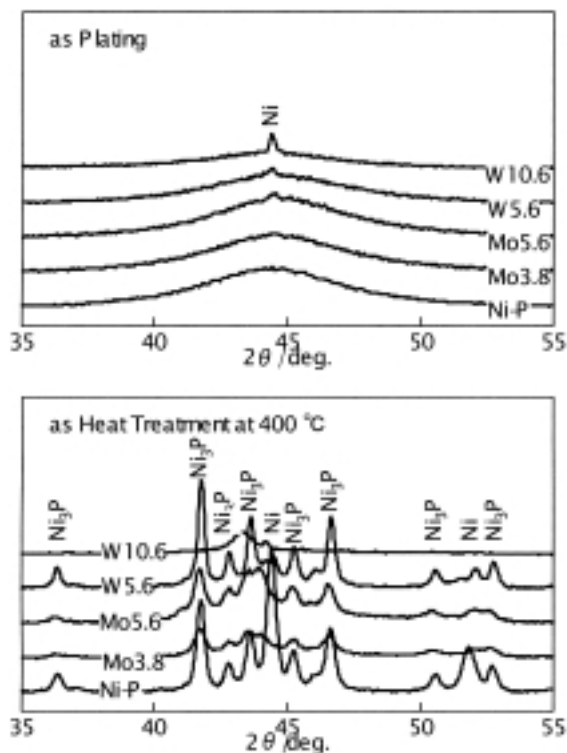
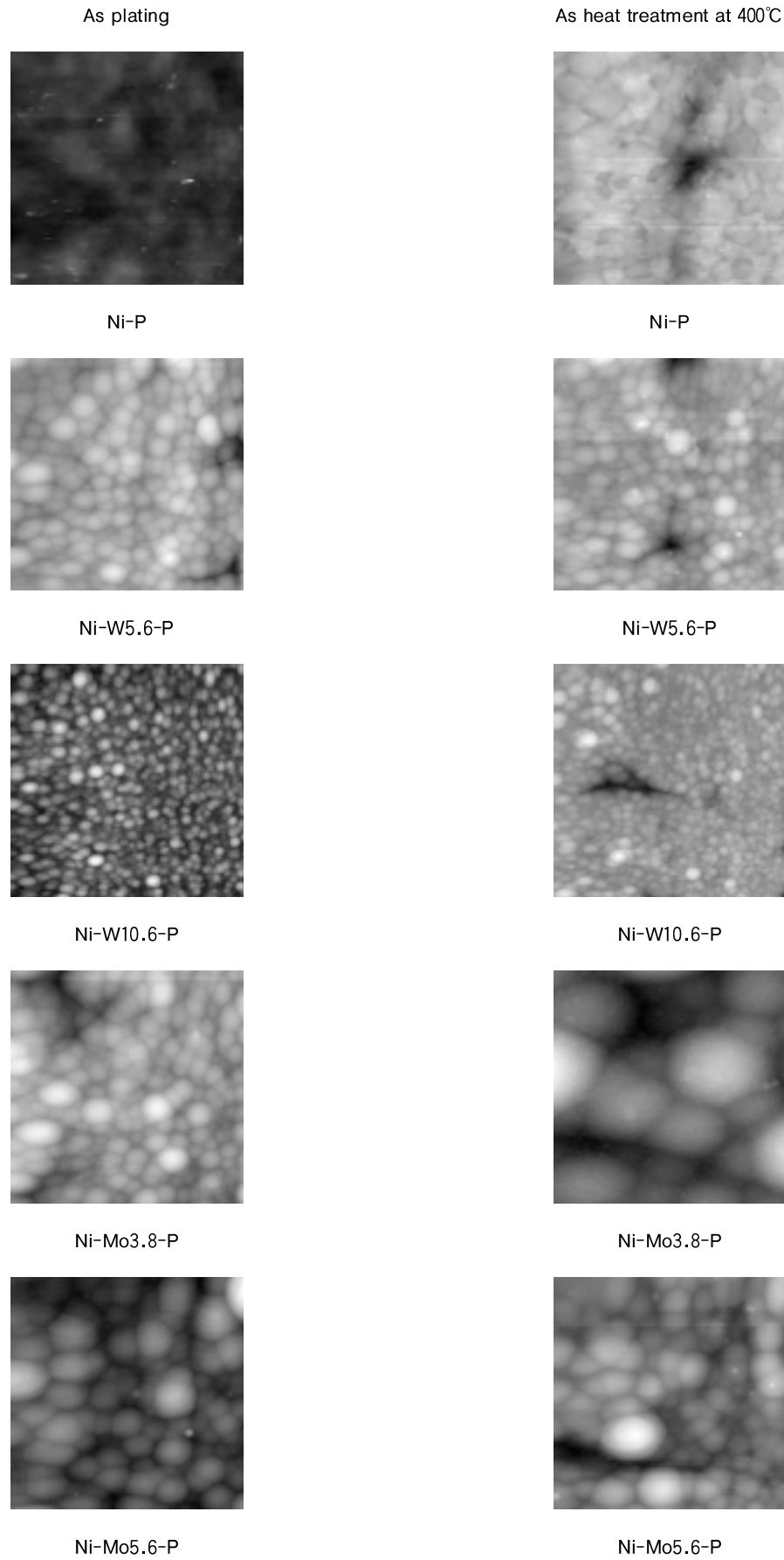


Fig. 1 X-ray diffraction patterns of plating



┌┐
5 μ m

Fig. 2 SPM images of plating

下水汚泥焼却灰を用いたカラーコンクリート製品の開発

河野敏夫 山中高志* 関田寿一

Application of Ash of Activated Sludge to Mixing in Concrete

Toshio KONO Takashi YAMANAKA Toshikazu SEKITA

下水汚泥焼却灰の再利用・処理方法として、コンクリートに混入することを検討した。下水汚泥焼却灰の高い配合条件によっては、スランプの低下、強度低下等のマイナス面が明らかになったが、10～15%の範囲での細骨材置換率では、マイナス面は見られなかった。下水汚泥焼却灰の混入によってコンクリートは茶褐色の色調を示し、暖かみのある風合いが得られた。

1. はじめに

環境に関する意識の高まり、ゼロエミッションの推進から廃棄物の再利用に関する技術開発が各研究所・機関において盛んに行われている。当センターにおいても平成5～7年度にかけて高知県内の企業からなる研究会「焼却灰処理システム技術研究会」を設立して、都市ゴミ焼却灰の再利用技術の開発を検討し、その結果、商品化に成功した。また平成9～10年度には高知県内の企業および大学からなる研究会「環境融合資材技術開発研究会」を設立し、県内企業から排出される無機系産業廃棄物について、排出量の比較的多いものを対象として再利用に関する検討を行ってきた。

一般に廃棄物のリサイクルは技術的には可能だが、採算ベースに乗らない、コスト高になると言われる。例えば、リサイクル原料はバージン原料と比較して、コスト高になり、さらに性能が低下するといわれ、原料というものづくりの出発点において、その短所は避けられないことが挙げられる。

しかし、現実問題として廃棄物の再利用および処理は急務を要する課題であり、産業界においても自社の存続を脅かす脅威となりつつあり、実用性の高い再利用技術、処理方法が要求されている。

こうした現状を踏まえ、理想的な廃棄物の再利用形態の一つとして、廃棄物の持つ長所を明らかにし、生かす活用方法が考えられる。既存の製品にある廃棄物を加えることによってプラスアルファの機能が発生す

れば、その再利用方法は廃棄物の再利用に伴う短所を克服した、有効で、実用的な手段とすることができる。今回、下水汚泥焼却灰の処理方法における新規用途開発として、下水汚泥焼却灰の持つ茶褐色の色調を生かし、コンクリートに混入してカラーコンクリート化することについて検討を行った。

下水処理は微生物による有機物の分解処理および、分解処理の結果生じた下水汚泥の焼却処理という工程からなり、最終的に廃棄物として焼却灰を排出する。高知市では市内4カ所に下水処理場を持ち、このうち2カ所から発生する下水汚泥を集積して焼却処分し、その結果年間約500トン（平成9年度実績）の下水汚泥焼却灰が発生している。本研究ではこの下水汚泥焼却灰を対象として検討を行った。

検討方法は、まず、下水汚泥焼却灰のキャラクターゼーションを行って特性を把握し、続いて、コンクリートへの混入条件を検討、試作し、最後に得られたコンクリートの特性を評価することによって実用性に対する判断を行った。

2. 実験方法

2.1. 下水汚泥焼却灰の化学分析

所定量の下水汚泥焼却灰を秤量し、105℃の乾燥器内で一昼夜放置した後、重量を測定して含水率を求めた。次にこの乾燥状態にある下水汚泥焼却灰を所定量秤量し、加圧酸分解法または酸分解法によって溶液化し、プラズマ発光分光測定装置、原子吸光分光光度計および水銀分析計を用いて元素の分析を行った。また、1000℃の雰囲気下で1時間放置し、強熱減量を求めた。

技術第1部

*東洋電化工業株式会社

表1 原料の規格

原料	規格	真比重	F.M.	表乾比重	吸水率
セメント	標準ポルトランドセメント	3.15	—	—	—
粗骨材	石灰砕石(2005)	2.69	6.38	2.70	0.32
細骨材	石灰砕砂	2.69	3.62	2.66	1.03
下水汚泥焼却灰	含水率: 30.9~34.4wt%	2.66	—	—	—
水	水道水	1.00	—	—	—
減水剤	高性能減水剤	—	—	—	—

表2 試験練りに用いた配合表(1m³あたり)

W/C	細骨材の置換率	単位セメント量		単位水量	単位細骨材砂量	単位粗骨材量	単位焼却灰量
		Wt.(kg)	V.(L)				
W/C=48	3.4%	360.0	114.3	161.0	817.8	1053.0	41.3
		114.3	114.3	161.0	304.0	391.4	29.0
	6.9%	360.0	114.3	148.0	774.7	1053.0	82.7
		114.3	114.3	148.0	288.0	391.4	58.0
	10.5%	360.0	114.3	134.9	731.7	1053.0	124.0
		114.3	114.3	134.9	272.0	391.4	87.1
W/C=55	3.5%	360.0	114.3	185.0	789.5	1017.4	41.3
		114.3	114.3	185.0	293.5	378.2	29.0
	7.1%	360.0	114.3	172.0	746.5	1017.4	82.7
		114.3	114.3	172.0	277.5	378.2	58.0
	10.9%	360.0	114.3	158.9	703.4	1017.4	124.0
		114.3	114.3	158.9	261.5	378.2	87.1
19.4%	360.0	114.3	145.9	660.4	1017.4	165.4	
	114.3	114.3	145.9	245.5	378.2	116.1	
W/C=60	11.2%	360.0	114.3	178.0	681.6	990.8	123.0
		114.3	114.3	178.0	253.4	368.3	86.0
	15.2%	360.0	114.3	165.3	638.6	990.8	163.9
		114.3	114.3	165.3	237.4	368.3	114.7
W/C=65	19.4%	360.0	114.3	152.7	595.6	990.8	204.9
		114.3	114.3	152.7	221.4	368.3	143.3
	15.7%	360.0	114.3	183.3	616.8	964.2	163.9
		114.3	114.3	183.3	229.3	358.4	114.7
W/C=70	20.0%	360.0	114.3	170.7	573.8	964.2	204.9
		114.3	114.3	170.7	213.3	358.4	143.3
	24.5%	360.0	114.3	155.9	530.7	964.2	248.1
		114.3	114.3	155.9	197.3	358.4	174.1
W/C=70	20.6%	360.0	114.3	188.7	552.0	937.6	204.9
		114.3	114.3	188.7	205.2	348.6	143.3
	25.2%	360.0	114.3	176.0	508.9	937.6	245.9
		114.3	114.3	176.0	189.2	348.6	172.0
30.1%	360.0	114.3	160.8	465.9	937.6	289.4	
	114.3	114.3	160.8	173.2	348.6	203.2	

表3 下水汚泥焼却灰の化学組成分析値

主成分系	含有率(wt%)	重金属系	含有率
Ig-Loss	1.92	Zn	0.510 wt%
Na ₂ O	0.94	Mn	0.691 wt%
K ₂ O	1.66	Ba	0.671 wt%
MgO	3.15	Ni	102 mg/kg
CaO	5.14	Cr	167 mg/kg
SiO ₂	49.23	Cu	844 mg/kg
Al ₂ O ₃	13.11	Se	NIX 0.2)mg/kg
P ₂ O ₅	12.34	As	0.8 mg/kg
SO ₃	1.12	Pb	22 mg/kg
Fe ₂ O ₃	9.01	Cd	3.2 mg/kg
TiO ₂	0.16	Hg	0.014 mg/kg
		Total	99.97 wt%

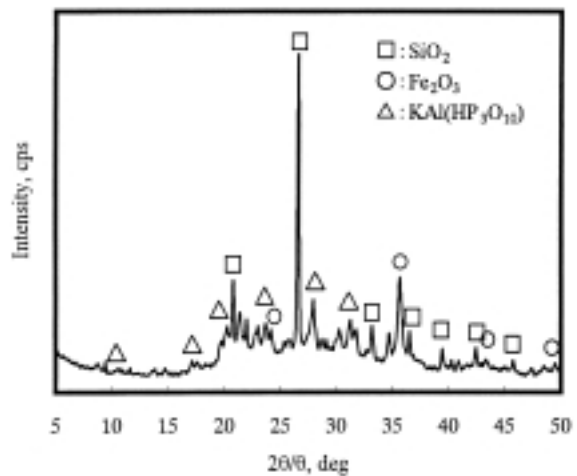


図1 下水汚泥焼却灰のX線回析パターン

鉱物組成はX線回折測定装置によって測定し、JCPDFカードを用いて検索した。

2.2. 下水汚泥焼却灰の物理的性質測定

下水汚泥焼却灰の粒度分布をレーザー回折式粒度分布計、粒子性状を走査型電子顕微鏡（以下SEM）によって評価した。また絶乾状態の下水汚泥焼却灰を用いて、ゲーリュサック型比重瓶による真比重の測定を行った。

2.3. コンクリート混入試験

下水汚泥焼却灰をコンクリートに混入するにあたり、細骨材の体積置換による混入方法を用いた。使用した材料はそれぞれ、セメントは普通ポルトランドセメントを、骨材は細骨材、粗骨材とも石灰石碎石を、減水剤は高性能減水剤（標準形Ⅰ種：マッドフロー200）を用いた（添加量はセメントの1.5wt%）（表1）。基本配合は、水セメント比（以下W/C比）48%、細骨材/粗骨材比：45とし、予めセメントの物理的性質によるフロー試験を行い、W/C比と置換率を決定した。また、下水汚泥焼却灰は予め含水率を測定し、含有する水分をコンクリートに用いる水量に合算して、配合割合を計算した（表2）。

1回の試験練り量は25Lとし、W/C比および下水汚泥焼却灰による細骨材の置換率を変動要因として全体配合を検討した。

練り方法は、まずセメント、細骨材および下水汚泥焼却灰を1分間空練りし、続いて減水剤を溶解させた水を加え1分間練り、最後に粗骨材を加え、1分間練った後、スランプおよび空気量を測定した。次にテーブルバイブレーターを用いて30秒間型詰めを行い、脱型後、圧縮試験を行うまで水中養生を行った。

2.4. コンクリートの色彩の測定

下水汚泥焼却灰の添加量とコンクリートの色彩の関係を明らかにするために、脱型後恒温室（20℃）に放置した試験片について、色差計を用いて色彩の測定を行った。

2.5. 下水汚泥焼却灰混入コンクリートの溶出試験

圧縮試験後、破壊した試験片をさらに粉碎し、2mmのふるいを通過したものを対象として、環境庁告示第46号に定められた方法によって重金属類の溶出試験を行った。

3. 結果および考察

3.1. 下水汚泥焼却灰のキャラクタリゼーション

下水汚泥焼却灰の化学組成分析結果を表3に、X線回折測定結果を図1に示す。

下水汚泥焼却灰は主成分として、珪素、アルミニウム、リン、鉄からなり、砒素、鉛、カドミウムおよび水銀等の重金属類も若干含有している。他の無機系資源と比較するとリンの含有率の高さが突出している。また図1から下水汚泥焼却灰を構成する鉱物は主として、 SiO_2 (Quartz)、 Fe_2O_3 (Hematite)であり、高いリンの含有量を示すことから、リンの含有される鉱物を検索すると、 $\text{KAl}(\text{HP}_3\text{O}_{10})$ (Unnamed)のピークが良くマッチした。

3.2. 下水汚泥焼却灰の添加割合とフレッシュコンクリートの性状の関係について

図2にスランプと下水汚泥焼却灰の置換率の関係を示す。

図2から、W/C比60の系列を除いて、他の系列はほぼ同様の勾配を示すことから、目標スランプ値に対するW/C比、下水汚泥焼却灰の置換率の設定が可能となることが示唆される。

また図3に空気量と下水汚泥焼却灰の置換率の関係を示す。図3から減水剤として高性能減水剤を用いている影響が、空気量は少なく、置換率の影響も少ない。

3.3. 下水汚泥焼却灰の添加の圧縮強さへの影響

それぞれの配合における圧縮強さの経時変化を図4～8に示す。

図4～8の全てのW/C比系列において、下水汚泥焼却灰の置換率と圧縮強さの関係に着目すると、下水汚泥焼却灰の置換率の高い配合において、その圧縮強さは高強度を示す傾向にあるといえる。また、その強度の差はW/C比が多くなるにつれて減少し、W/C比70の系列においてはほぼ同様の値を示す。

続いて、圧縮強さの経時変化に着目すると、W/C比48および55以外の系列は材令28日と91日の差が小さく、最終強度に到達する時間が短いといえる。逆にW/C比48および55の系列は、時間経過と強度上昇の勾配の変化が材令28日には現れず、ほぼ一定の勾配で上昇している。

図4～8を同一置換率でプロットし直したものを図9に示す。全体を通して、同一置換率では、W/C比が低いほど高い圧縮強さを示す傾向が見られる。さらに、W/C比が低い系列ほど、下水汚泥焼却灰の置換

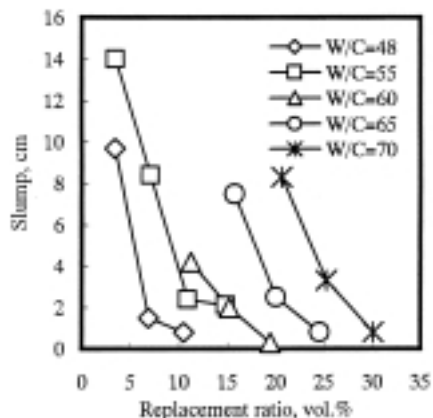


図2 置換率とスランプの関係

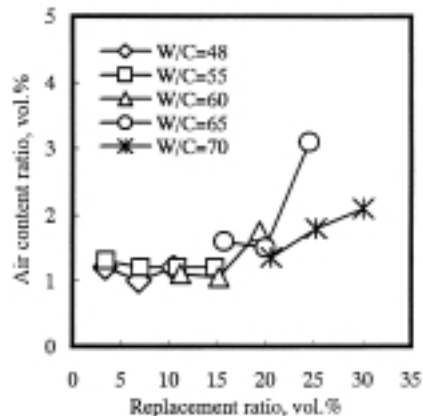


図3 置換率と空気量の関係

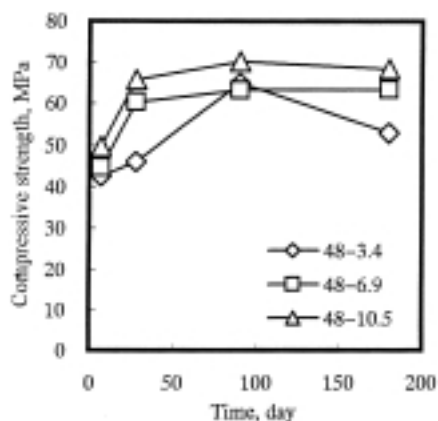


図4 W/C比48系列の圧縮強さの経時変化

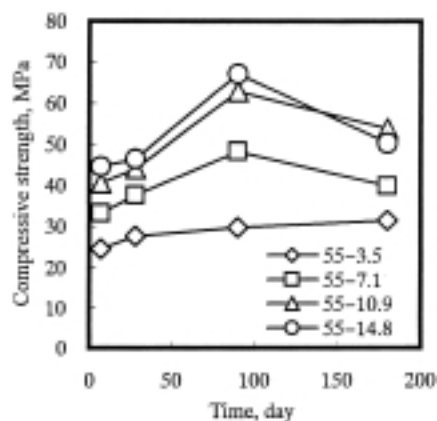


図5 W/C比55系列の圧縮強さの経時変化

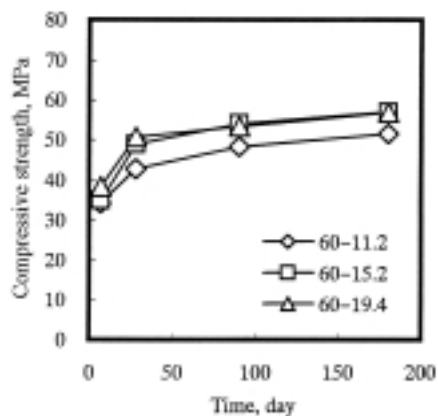


図6 W/C比60系列の圧縮強さの経時変化

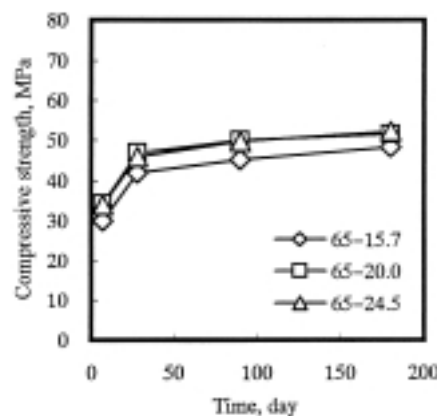


図7 W/C比65系列の圧縮強さの経時変化

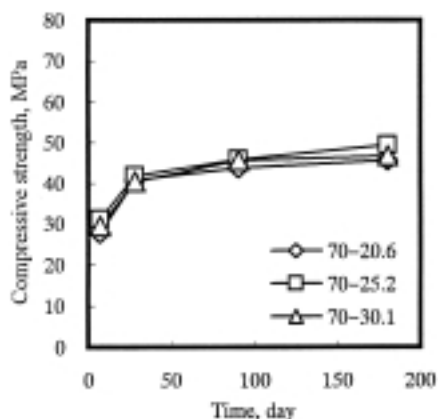


図8 W/C比70系列の圧縮強さの経時変化

率の上昇に伴う、圧縮強さの上昇割合が大きく、W/C比が高い系列では逆の傾向が見られる。即ち、W/C比の低い系列では、下水泥焼却灰の添加による強度増加を望むことができるが、W/C比の高い系列では添加による強度増加は期待できない。

3.4. 下水泥焼却灰添加のコンクリート色調への影響

色差計による各コンクリート試料の測定結果をL*a*b*表色系で示したものを図10に示す。

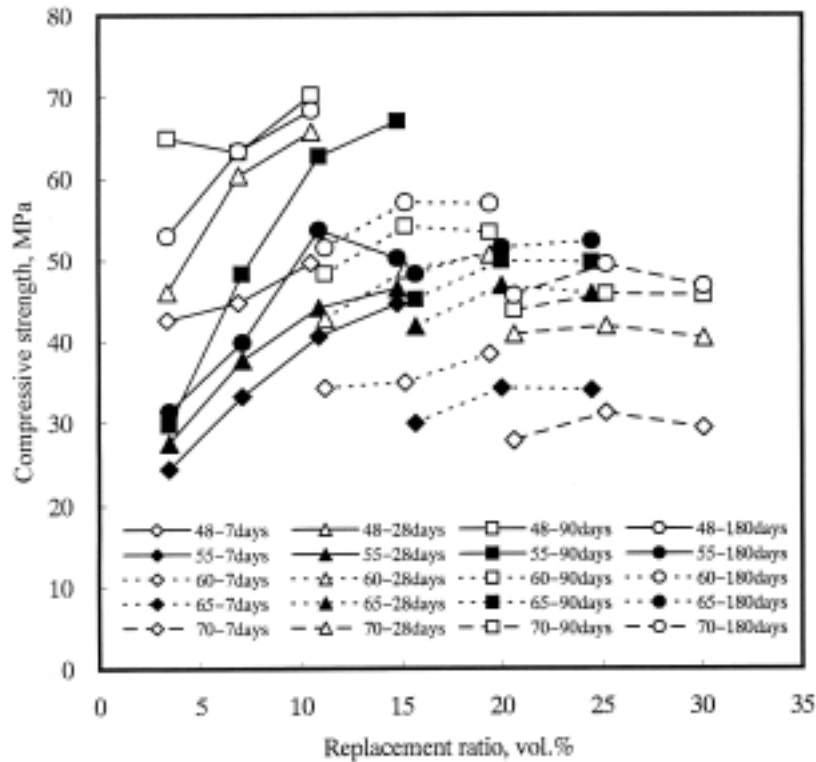


図9 置換率を基準にとった圧縮強さの経時変化

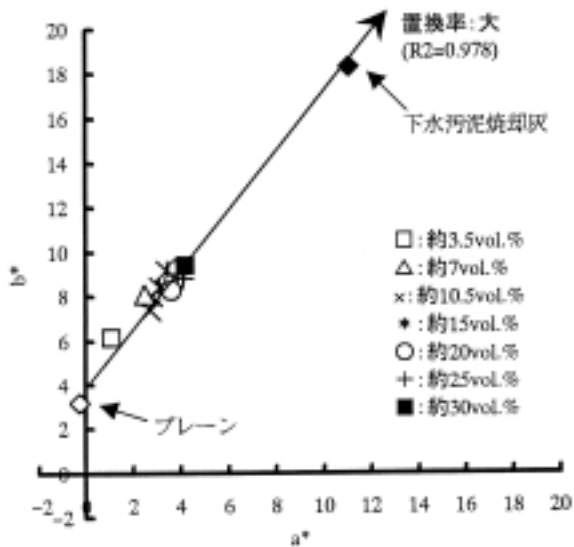


図10 下水汚泥焼却灰混入コンクリートの色彩計測結果

図10から分かるように、下水汚泥焼却灰を混入していないコンクリート試験片（プレーン）と、下水汚泥焼却灰単体を測定した結果とを結んだ直線上に、置換率およびW/C比を変化させた試験片の結果は並び、最小自乗法による近似の結果、0.978と高い相関性が見られた。このことから、下水汚泥焼却灰の置換率を設定することによって、その色彩を予測することが可能であるといえる。

表4 下水汚泥焼却灰混入コンクリートの溶出試験結果

	溶出基準値 (mg/l)	分析値 (mg/l)
Cd	0.01以下	検出限界値(0.001)以下
Pb	0.01以下	検出限界値(0.01)以下
T-Cr	0.05(Cr ⁶⁺ として)以下	検出限界値(0.01)以下
As	0.01以下	検出限界値(0.01)以下
T-Hg	0.0005以下	検出限界値(0.0005)以下
Se	0.01以下	検出限界値(0.01)以下

3.5. 下水汚泥焼却灰混入コンクリートの溶出試験
溶出試験の結果、下水汚泥焼却灰混入コンクリートは、測定した元素について溶出基準値をクリアしていた(表4)。

4. まとめ

下水汚泥焼却灰の新規用途として、コンクリートに混入しカラーコンクリート化させることを検討した結果を以下にまとめる。

- 1) 下水汚泥焼却灰は、主成分として珪素、鉄、リンからなり、約10 μ mの二次粒子径を持つ。
- 2) 下水汚泥焼却灰を混入したフレッシュコンクリートのスランプ値は、W/C比および置換率から推定可能である。

- 3) 圧縮強さの経時変化は、W/C比55以外の系列は材令28日と91日の差が小さく、最終強度に到達する時間が短いといえる。
- 4) 同一置換率では、W/C比が低いほど高い圧縮強さを示す傾向が見られる。
- 5) 下水汚泥焼却灰の置換率を設定することによって、その色彩を予測することが可能であるといえる。
- 6) 下水汚泥焼却灰を混入したコンクリートは、環境庁告示第46号に定められた基準値をクリアしている。

以上の結果から、下水汚泥焼却灰を混入したコンクリートは、下水汚泥焼却灰の再利用技術として有効であると考えられる。

5. 施工事例紹介

最後に本研究において、得られた結果をもとに実際にコンクリート二次製品を製造し、公共工事において試験施工した事例（擁壁用コンクリート）を図11に示す。



図11

技術 第 2 部

魚肉水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の 性質並びに単離精製

野村 明 伊藤慶明 八幡光一 谷脇成幸 小畠 渥

(1999年11月1日受付、2000年3月14日受理)

*The properties and isolation of a myosin heavy chain degradation
inhibitor in the sarcoplasmic protein of fish meat*

Akira Nomura^{*1}, *Yoshiaki Itoh*^{*2}, *Koichi Yahata*^{*2*3},
Nariyuki Taniwaki^{*2} and *Atsushi Obatake*^{*3}

A myosin heavy chain degradation inhibitor (MDI) prepared from the sarcoplasmic protein of a particular fish meat inhibited the serine protease (trypsin, chymotrypsin) activity. The degradation of myosin heavy chain in the washed meat around 40°C was also restrained by adding serine protease inhibitors. It is therefore conceivable that MDI is water soluble and acts as an inhibitor against serine protease in washed meat.

MDI was isolated from the water soluble fraction of fish meat through a 4-step process, batch type DEAE ion exchange, ammonium sulfate fractionation, DEAE ionexchange chromatography, and Sephacryl S-300 gel filtration chromatography. It was found to be a monomeric protein with a molecular weight of 80,000.

キーワード：ミオシン重鎖、戻り、水晒し、戻り抑制因子、プロテアーゼインヒビター

著者らは土佐湾産魚の無晒肉および晒肉から調製した塩ずり身の加熱ゲル形成における戻り発現の有無によって4タイプに分類できることを報告した。¹⁾このうち、IV型魚は水晒しによってはじめて40°C付近でミオシン重鎖(HC)の分解を伴う戻りが誘発される従来にはないタイプである。¹⁾この戻りは、それらの魚の水溶性タンパク質画分(Sp-P)を添加することによって抑制されることから、Sp-P中にHC分解抑制因子(MDI)が存在することが示唆された。²⁾また、この因子をある程度精製したところ、分子量8~9万の

MDIの存在が確認された。²⁾

一方、晒肉の40°C付近での戻りはマエソ類ではセリン型およびシステイン型プロテアーゼによることが報告されている。³⁾このことから、MDIはHCを分類するプロテアーゼのインヒビターと考えられた。そこで本研究では、この性質を明かにするために、先ずIV型魚晒肉のHC分解に関与しているプロテアーゼのタイプを明らかにするとともに、数種プロテアーゼ標品に対する本MDIの阻害効果を調べ、さらに、MDIを単離・精製し、分子量を求めた。

*1 高知県工業技術センター (Kochi Prefectural Industrial Technology Center, Nunoshida, Kochi 781-5101, Japan)

*2 高知大学農学部栽培漁業学科 (Department of Aquaculture Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783-0093, Japan)

*3 現所属 日本ハム惣菜(株) (Nippon Ham Daily Dish Co. Ltd., Sanjo, Nigata 955-0036, Japan)

*4 愛媛大学連合大学院農学研究科 (Graduate School of Agriculture, Ehime University, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan). STI, Soy bean trypsin inhibitor; PMSF Phenylmethylsulfonyl fluoride; AP, Antipain LP, Leupeptin; E64, L-trans-epoxysuccinyl-leucylamido-(4-guanidino butane) NEM, N-ethylmaleimide; EDTA, dl-Sodium dihydrogen ethylenediamine tetraacetate

実験方法

供試魚 高知市御置瀬漁港に水揚げされたヒメコダイ *Chelidoperca hirundiancea* (I型魚¹⁾) および3種類のIV型魚、カナド *Lepidotrigla guentheri*、ユメカサゴ *Helicolenus hilgendorfi* およびアカムツ *Doederleinia berycoides* を供試した。

晒肉の調製 晒肉は既報¹⁾に従って調製した。

粗MDIの調製 前報²⁾で述べた方法に従って魚肉から水抽出後、バッチ式イオン交換および硫酸分画を行い、粗MDIを調製した。

IV型魚晒肉への市販プロテアーゼインヒビターの添加と加熱ゲルの調整 セリン型プロテアーゼインヒビターとしてSTI(和光純薬工業製、生化学用)およびPMSF(和光純薬工業製、生化学用)、セリンおよびシステイン両型プロテアーゼインヒビターとしてAP(ペプチド研製)およびLP(ペプチド研製)、システイン型プロテアーゼインヒビターとしてNEM(Sigma社製)およびE-64(ペプチド研製)並びに金属依存型プロテアーゼインヒビターとしてEDTA(ナカライテスク製)を用いた。これらの試薬は冷蒸留水に溶解後、3%NaClとともにIV型魚晒肉に添加し、攪漬後、40℃で2時間加熱して加熱ゲル(水分87%)を調製した。なお、PMSFはあらかじめエタノールで溶解してから添加した。各インヒビター標品の添加量はTable 1に記載したように既報³⁾に準じた。

加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)は既報¹⁾に準じて行った。

プロテアーゼ標品に対するMDIの阻害活性及びDEAE-イオン交換カラムクロマトグラフィー溶出画分のトリプシン阻害(TI)活性の測定 合成基質に対するセリン型およびシステイン型プロテアーゼ標品の

Table 1. Protease inhibitors and their amounts used in the experiment

Type of protease inhibitors		Amount (per g of Washed meat)
Serine	STI	400 μ g
	PMSF	200 μ g
Serine and cysteine	AP	400 μ g
	LP	400 μ g
Cysteine	NEM	2.5mg
	E64	7.0mg
Metal	EDTA	1.8mg

STI, Soybean trypsin inhibitor; PMSF, Phenylmethylsulfonyl fluoride; AP, Antipain; LP, Leupeptin; NEM, N-ethylmaleimide; E64, L-trans-epoxysuccinyl-leucylamido-(4-guanidino butane); EDTA, di-Sodium dihydrogen ethylene-diamino tetraacetate dihydrate

活性に及ぼすMDIの影響を調べ、阻害活性を測定した。

セリン型プロテアーゼとしてトリプシンおよびキモトリプシン(和光純薬工業製)を供試した。合成基質としてトリプシンには Benzoyl-L-arginine ethylester (BAEE、ペプチド研製)を、キモトリプシンには Benzoyl-L-tyrosine ethylester (BTEE、ペプチド研製)を使用し、Travis *et al.*^{4,5)}の方法に準じてそれぞれ活性を測定した。トリプシン活性は基質を添加することによって、反応を開始し、5分間の253nmでの吸光値を連続して測定した。水を添加したコントロールと粗MDIを添加した場合の単位時間当たりの上昇率をそれぞれ求め、その差をタンパク質量(mg)で除し、阻害活性を unit/mgP で示した。また、キモトリプシン活性は256nmのそれから求めた。

システイン型プロテアーゼとしてパpain(和光純薬工業製)を供試した。これらの活性測定はArnon⁶⁾の方法に従った。すなわち合成基質として Benzoyl-D, L-arginine-*p*-nitroanilide HCl (BAPA、ペプチド研製)を用い、30分間反応後の410nmでの吸光値を測定し、トリプシン活性の場合と同様に阻害活性を求めた。

DEAE-イオン交換カラムクロマトグラフィー溶出画分のTI活性はSmith *et al.*⁷⁾の方法に基づく Weerasinghe *et al.*⁸⁾の方法に従って測定した。ここでは短時間で一括処理が可能な本法を用いた。つまり、200 μ lのトリプシン溶液(1 μ g/ml)に溶出画分100 μ lおよび蒸留水100 μ lを混合し、37℃で10分間予備加熱した。500 μ lの合成基質(BAPA 0.4mg/ml)を添加することによって反応を開始し、37℃で10分間加熱後、100 μ lの30%(v/v)酢酸を加えて反応を停止した。8000 \times gで3分間遠心分離後、遊離してきた *p*-nitroanilide の410nmでの吸光度を測定した。各画分の代わりに溶媒である20mM Tris-HCl、1 mM EDTA (pH7.0)を加えて同様に処理したものをコントロールとして次式によってTI活性を求めた。

$$\left\{ \text{Abs. (コントロール)} - \text{Abs. (各画分)} \right\} / \text{タンパク量 (mg/ml)}$$

DEAE-イオン交換カラムクロマトグラフィー20mM Tris-HCl、1 mM EDTA (pH7.0)で平衡化したDEAE-Toyopearl 650(東ソー製)カラム(ϕ 2.6cm \times 40cm)に粗MDI 5 ml(タンパク量8.5mg)を添加した後、溶離液の流速を2.0ml/minとし、試験管1本あたり20mlずつ分取した。開始後2時間までは平衡化した緩衝液で未吸着成分を溶出させた後、NaCl濃度を直線的にあげ、15時間30分後にその濃度が0.4Mに

なるように設定した。

溶出した各画分を透析膜に充填後、ポリエチレングリコール (#20,000) に埋没して 2 ml まで脱水濃縮し、TI 活性を測定した。

ゲル濾過 DEAE-イオン交換カラムクロマトグラフィーによって TI 活性のある画分をゲル濾過にかけた。0.1M NaCl、10mM リン酸ナトリウム緩衝液、1 mM EDTA (pH6.8) で平衡化した Sephacryl s-300 (Pharmacia 社製) (カラム ϕ 1.3cm \times 70cm) に 1.5ml の試料を (タンパク質 3 mg) を添加後、流速 0.4ml/min で、1.5ml づつ分取した。溶出された画分を各ピーク毎にまとめて濃縮し、上記と同様に TI 活性を測定した。

ゲル濾過画分の SDS-PAGE TI 活性の認められたゲル濾過画分を、透析膜に充填してポリエチレングリコール (#20,000) で脱水乾固し、1% SDS 溶液 0.8ml で溶解した。その 40 μ l を 5% アクリルアミドゲルを用いて、Weber-Osborn⁹⁾の方法による SDS-PAGE に供した。分子量測定のため低分子量キット (Pharmacia 社製) を用いた。

実験結果および考察

IV 型魚晒肉中の HC 分解に関与するプロテアーゼのタイプ IV 型魚晒肉中のプロテアーゼのタイプを明らかにするため、カナド、ユメカサゴおよびアカムツの晒肉塩ずり身に STI, PMSF, AP, LP, E-64, NEM 並びに EDTA を Table 1 に示した割合で添加し、40°C で

2 時間加熱して得られたゲルの SDS-PAGE 図を調べ、その結果を Fig. 1 に示した。カナドおよびユメカサゴでは、STI, PMSF, AP 並びに LP を添加すると HC の減少および HC とアクチンとの間の成分の生成が抑制され、これらのインヒビターはプロテアーゼによる HC 分解を抑制したものと判断した。E-64, NEM, EDTA および PMSF を溶解する際に用いたエタノールには HC 分解抑制作用は認められなかった。前 2 魚種と異なり、アカムツでは STI および PMSF で HC の分解を抑制する作用は認められたが、AP, LP E-64, NEM および EDTA での分解抑制は認められなかった。

これら各種プロテアーゼインヒビターの HC 分解に対する抑制効果は、カナド、ユメカサゴおよびアカムツいずれの場合にもセリン型プロテアーゼインヒビター (STI および PMSF) によって程度の差はあったものの認められた。また、カナドおよびユメカサゴではセリンおよびシステイン両型プロテアーゼインヒビター (LP および AP) によっても強い抑制効果が認められた。しかし、アカムツでは LP および AP によって抑制されなかった。セリンプロテアーゼによって誘発される HC の分解を伴った戻りは PMSF, STI の他、LP および AP によって阻害されることが報告されている。^{3,10)} 本研究で用いた LP および AP はエソ類の分解抑制に効果のあった量³⁾であり、必ずしもアカムツのプロテアーゼの活性を抑制できる量でなかったのかもしれない。この点については今後、更に検討する必

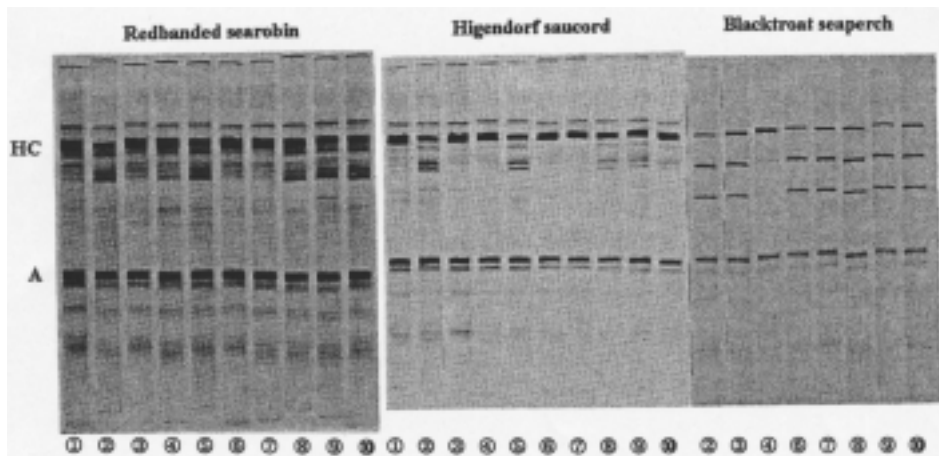


Fig. 1. SDS-PAGE patterns of the heated gels prepared in the presence of various types of protease inhibitors. Heated gels were prepared by grinding the washed meat of Type IV fish with 3% NaCl and protease inhibitor detailed in Table 1, followed by heating at 40°C for 2 h. SDS-PAGE was carried out by the procedures as shown in the previous paper.¹⁾

Type IV fish, Redbanded searobin (Kanado) *Lepidotrigla guentheri*; Hilgendorf saucord (Yumekasago) *Helicolenus hilgendorfi*; Blackthroat seaperch (Akamutsu) *Doederleinia berycoides*. The name in () represents the Japanese common name.

Hc, myosin heavy chain; A, actin; ①, Control, no additives; (unheated meat paste) ②, Control (heated gel); ③, STI; ④, PMSF; ⑤, ethanol; ⑥, AP; ⑦, LP; ⑧, E-64; ⑨, NEM; ⑩, EDTA

要があると思われる。また、いずれの魚種共システイン型プロテアーゼインヒビター (E-64および NEM) 並びに金属依存型プロテアーゼインヒビター (EDTA) では全く抑制効果は認められなかった。このことから IV 型魚晒肉で認められる 40°C での HC の分解にはセリン型プロテアーゼが関与しているものと判断した。

プロテアーゼインヒビターとして MDI の作用 上記のように IV 型魚晒肉の HC の分解にセリン型プロテアーゼが関与していることが示唆されたので、Sp-P 中の MIDI はセリンプロテアーゼに対するインヒビターではないかと考え、市販セリンプロテアーゼ (トリプシン、キモトリプシン) およびシステインプロテアーゼ (パパイン) に対する粗 MDI の阻害作用について検討した。ここでシステインプロテアーゼで戻りが誘発されることが報告³⁾されていることおよびここで使用した MDI は部分精製の段階であり、両者のプロテアーゼについて確認する必要があると考えたからである。また、パパインの活性中心の近傍アミノ酸配列はほとんどのシステインプロテアーゼのそれと類似し、相同性が高いと考えられたので、システインプロテアーゼとしてパパインを使用した。

I 型魚のヒメコダイ、IV 型魚のアカムツ、カナドおよびユメカサゴから粗 MDI を調製し、その阻害活性を調べ、Table 2 に示した。トリプシンに対する阻害活性は、アカムツ>カナド>ヒメコダイ>ユメカサゴの順に強かった。中でもアカムツが最も強く、他の魚種の 2~3 倍であった。キモトリプシンの場合はヒメコダイ≧アカムツ>カナド>ユメカサゴの順に強く、ヒメコダイとアカムツが同程度であった。ユメカサゴはトリプシンおよびキモトリプシンの阻害活性が最も弱かった。一方、システイン型プロテアーゼに対する

阻害活性はいずれの魚種でも認められなかった。以上のことから、いずれの魚種でも MDI はセリン型プロテアーゼインヒビターであることが確認された。セリンプロテアーゼの活性中心のアミノ酸残基はそれぞれ特異的であり、P1 位のアミノ酸はトリプシンおよびキモトリプシンで異なる。このことから粗 MDI の中には両者の活性をそれぞれ阻害する 2 種のインヒビターか、STI のように一つの分子中の異なった部位に両者を阻害する活性中心をもつインヒビターが存在することが示唆された。

HC 分解抑制因子の単離精製 前報²⁾では、Sp-P から MDI の分離を進め、ゲル濾過パターンがほぼ単一のピークを示すまでに精製できたことを報告した。この純度を SDS-PAGE 図で確認すると、また数成分のバンドが認められ、単一の成分としては分離できなかったため、この粗 MDI の単離精製をさらに試みた。20mM Tris-HCl- 1 mM EDTA (pH7.0) で平衡化した DEAE トヨパール 650 を使用し、粗 MDI のイオン交換クロマトグラフィーを行った。その溶出曲線および TI 活性の認められた画分を Fig. 2 に示した。分画 No.35,36 および 37 の 3 本に TI 活性が認められ、特に 36 で強い活性がみられた。

さらに、活性のあった画分を濃縮して Sephacryl S-300 でゲル濾過したところ、四つのピークに分かれた (Fig. 3)。これらのピークのフラクションをそれぞれまとめて濃縮し、TI 活性を測定したところ、その活性は第 2 ピークに認められた。このピークの位置は前報²⁾で HC 抑制因子の存在が認められた主ピークのそれと一致した。さらに、このピークを回収して SDS-PAGE を行ったところ、単一のバンドとして認められた (Fig. 4)。ゲル濾過から求められる分子量

Table 2. Inhibitory activities of MDI prepared from Various fish meats against serine and cysteine proteases (unit/mg protein)

Fish species	Serine proteases		Cysteine proteases
	Trypsin	Chymotrypsin	Papain
Princes small porgy (Himekodai)	2.19	4.41	0
<i>Chelidoperca hirundiancea</i>			
Redbanded searobin (Kanado)	3.23	3.97	0
<i>Lepidotrigla guentheri</i>			
Hilgendorf saucord (Yumekasago)	2.19	0.69	0
<i>Helicolenus hilgendorfi</i>			
Blackthroat seaperch (Akamutsu)	6.64	4.21	0
<i>Doederleimia berycoides</i>			

As a MDI sample, the fractions G which was prepared according to the procedures as shown in previous paper.²⁾

The inhibitory activities of MDI against trypsin and chymotrypsin, and against papain were measured by the methods of Travis *et al.*^{4,5)} and by that of Arnon *et al.*⁶⁾ respectively.

Units of trypsin or chymotrypsin inhibited by one mg MDI (the fraction G).

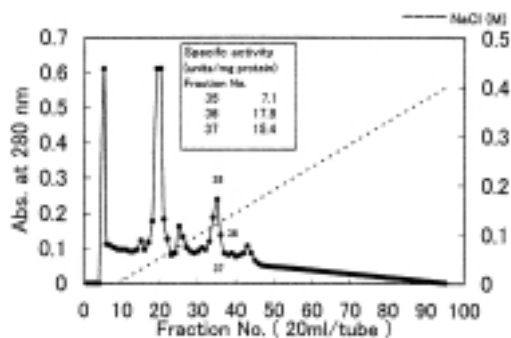


Fig. 2. DEAE-Toyopearl 650S ion exchange chromatography of crude MDI solution. Crude MDI was prepared by the procedure shown in the previous paper.²⁾

5 ml of 50–70% saturation solution with ammonium sulfate (about 2.4 mg protein/ml) was applied to the DEAE-Toyopearl 650 S column ($\phi 2.6 \times 40\text{cm}$) equilibrated with 20 mM Tris-HCl containing 1 mM EDTA (pH 7.0). The flow rate was 2.0 ml/min and 20 ml of each fraction was collected in a tube.

●, Absorbance at 280 nm ; ·····, NaCl concentration

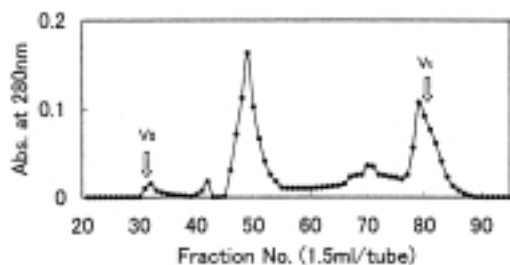


Fig. 3. Sephacryl S-300 gel filtration chromatography of MDI fraction obtained by DEAE-ion exchange chromatography.

20 ml of the fraction No.36 obtained by DEAE-ion exchange chromatography was concentrated to one-tenth and 1.5 ml of the solution was applied to a Sephacryl S-300 column ($\phi 1.3 \times 70\text{cm}$) equilibrated with 0.1 M sodium chloride- 1 mM EDTA-10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8).

The flow rate was 0.4 ml/min and 1.5 ml of each fraction was collected in a tube.

V_0 , void volume ; V_t , total volume

(Fig. 5) は、80,000 であり、このピークの SDS-PAGE の R_f 直線から求められる結果 (Fig. 5) と一致した。

以上の結果、HC 分解抑制因子は分子量80,000の単量体のタンパク質であることが明らかになった。魚肉の戻りまたはプロテオリシスを抑制するインヒビターに関しては Toyohara *et al.*の戻り誘発因子を抑制す

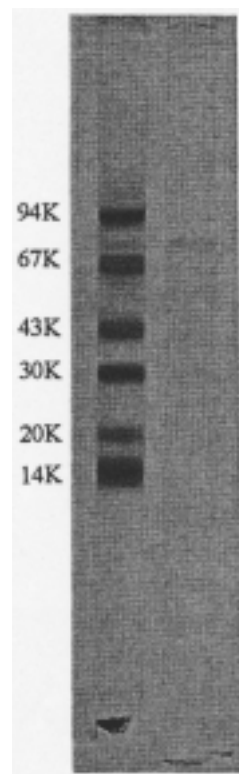


Fig. 4. SDS-PAGE patterns of MDI fraction obtained by Sephacryl S300 gel filtration chromatography.

The fractions of No.47–52 by Sephacryl S300 were put together, packed in dialytic tube and dehydrated in polyethylene glycol (#20,000) powder. After the dehydrate was solubilized with 2% SDS solution, it was applied to SDS-PAGE analysis using 5% polyacrylamide based on the Weber and Osborn method.¹⁰⁾

Left side was standard proteins solution mixed with MDI. 94 K, phosphorylase ; 67 K, bovine serum albumin ; 43 K, ovalbumin ; 30 K, carbonic anhydrase ; 20 K, soybean trypsin inhibitor ; 14 K, α -lactoalbumin

るインヒビター^{11,12)}および山下らのサケカテプシンを阻害する各組織中のシスタチンに関する研究^{13,14)}があり、後者に関しては塩ずり時に添加する応用研究¹⁴⁾も試みられている。今後、プロテアーゼに起因する戻りやすい魚肉をねり製品に利用するためにも実用面に則したインヒビターの研究が必要であると思われる。

Table 3 に精製段階に応じた TI 全活性、比活性および回収率等を示した。蒸留水で抽出した E_0 の比活性は 1.32 units/mg protein であったのに対し、それをパッチ式イオン交換並びに硫酸分画 (50–70%飽和) で部分精製したものでは阻害活性が約 2.6 倍に上昇した。

Table.3. Purification of MDI from Blackthroat seaperch muscle

Step	Total protein (mg)	Total activity (units)	Recovery (%)	Specific activity (units)	Purification (fold)
E_0 * ¹	2832	3738	100	1.32	1
(NH ₄) ₂ SO ₄ (50-70% saturation)* ²	98.1	340	9.1	3.47	2.6
DEAE-ion exchange* ³	4.77	80.6	2.2	16.9	12.8
Gel filtration* ⁴	—	—	—	39.8	30.2

*1, *2: E_0 and 50-70% saturation fraction were prepared from the procedures as shown in the previous paper.²⁾

*3: The fraction No.35, 36 and 37 obtained by the procedures described in Fig. 3.

*4: The fraction was obtained by the procedures described in Fig. 4.

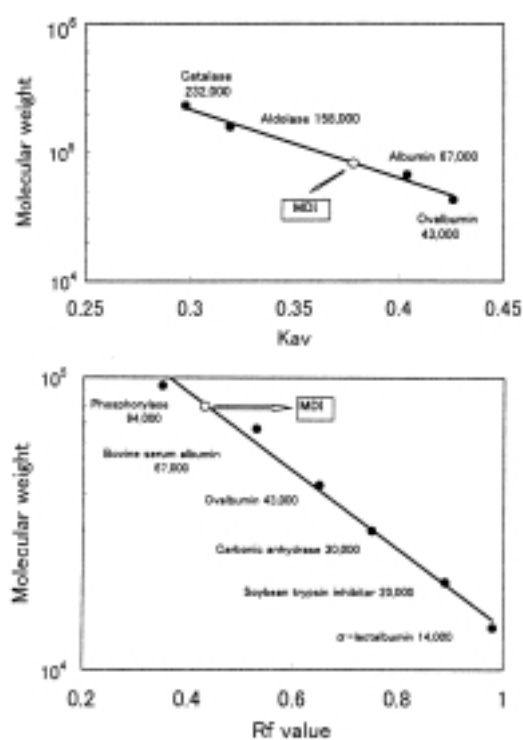


Fig. 5. Relationship between molecular weight of standard proteins, their K_{av} obtained from gel filtration chromatography on Sephacryl S-300 and their R_f values obtained from SDS-PAGE.
upper, K_{av} ; lower, R_f values

さらに DEAE カラムイオン交換クロマトグラフィーを行うと E_0 の 12.8 倍に、さらに同法によって分画された No.36 のフラクションのゲル濾過画分では 30 倍にまで精製された。

単離精製した MDI の阻害活性はトリプシンについてのみ測定しており、キモトリプシンについては検討しなかった。この MDI が STI のように分子の中の異なった部位に両者の活性中心が存在するのか明らかにすることが今後の検討課題として残った。

文 献

- 1) 野村 明、伊藤慶明、宗園貴仁、小島 渥：土佐湾産魚類の戻り発現に及ぼす水晒しの影響。日水誌、59, 857-864 (1993)。
- 2) 野村 明、伊藤慶明、逢坂良昭、北村有里、宮崎裕樹、小島 渥：水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の存在。日水誌、64, 878-884 (1998)。
- 3) P. Suwansakornkul, Y. Itoh, S. Hara, and A. Obatake: Identification of proteolytic activities of gel-degrading factors in three lizard species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1039-1045 (1993)
- 4) J. Travis and D. Johnson: Human α_1 -proteinase Inhibitor. *Methods in Enzymology*, 80, 754-765 (1980)
- 5) J. Travis and M. Morii: Human α_1 -antichymotrypsin. *Methods in Enzymology*, 56, 765-771 (1981)
- 6) R. Arnon: Papain. *Methods in Enzymology*, 19, 226-244 (1970)
- 7) C. Smith W. Megen, L. Twaalhoven, and C. Hitchcock: The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 31, 341-350 (1980)
- 8) V. Weerasinghe, M. Morrissey, and H. An: Characterization of active components in food-grade proteinase inhibitors for surimi manufacture. *J. Agric. food Chem.*, 44, 2584-2590 (1996)
- 9) K. Weber and M. Osborn: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl/sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412 (1969)
- 10) M. Kinoshita, H. Toyohara, and Y. Shimizu: Properties of a novel latent protease showing myosin heavy chain degrading activity from threadfin-bream muscle. *J. Biochem.*, 107, 587-591 (1990)

- 11) H. Toyohara, K. Sasaki, M. Kinoshita, and Y. Shimizu : Effect of bleeding on the *modori* phenomenon and possible existence of *modori*-inhibitor(s) in serum. *Nippon Suisan Gakkaishi* , 56, 1245-1249 (1990)
- 12) H. Toyohara, K. Sasaki, M. Kinoshita, Y. Shimizu, and M. Sakaguchi : Detection of inhibitors for *modori*-inducing proteinase in fish and calf serums. *Nippon Suisan Gakkaishi* , 57, 521-525 (1991)
- 13) M. Yamashita and S. Konagaya : A comparison of cystatin activity in the various tissue of chum salmon between feeding and spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.* , 100A, 749-751 (1991)
- 14) 山下倫明、逸見 光、上田智広、小原 貢、田老孝則、西岡不二男、小長谷史郎：産卵期サケ落とし身の加熱ゲル化過程で起きる著しいプロテオリシスとプロテアーゼインヒビター添加による魚肉ゲルの劣化抑制効果 .日水誌、62 ,934-938(1996).

魚肉の戻り発現型に応じたねり製品製造法の開発*1

(平成11年度日本水産学会賞技術賞受賞)

野村 明*2

高知県工業技術センター*3

1. はじめに

現在、全国で製造されている水産ねり製品の原料には、冷凍すり身が主に使用されている。しかし、高知県では原料として生鮮魚を多用することが特徴の一つである。特に、板付きかまぼこの高級品はマエソを主原料としている。ワニエソやトカゲエソも同じマエソ類であるが、これらは火戻りが著しい¹⁾ため高級品には用いられない。近年、マエソの高知県近海での漁獲量が減少してきたことから、混獲される雑魚を混合することもあり、近海産マエソの減少とともに、今後ますます、雑魚を使用せざるを得ない状況になることが予想される。

現在の水産ねり製品の製造では、採肉した魚肉を冷水で洗浄する水晒し処理が、ごく一般的に行われており、業界関係者の間では欠かせない工程として認識されている。晒し処理により臭気成分、脂肪および汚物を除去するとともに、水溶性タンパク質画分が流出するので、滑らかできめが細かく、足の強いかまぼこになり、²⁾これまでその効果について数種類の魚で確認されている。³⁾水晒しによって除去される水溶性タンパク質画分には、ゲル形成能を阻害するプロテアーゼが含まれている。⁴⁻⁶⁾しかし、水溶性タンパク質画分は必ずしも弾力の低下を引き起こす成分ばかりでなく、弾力を増強する成分も含まれ、⁷⁾ミオシン分子間にイソペプチド結合による架橋を形成し、坐りに関与するトランスグルタミナーゼ(TGase)が含まれている。^{8,9)}一方、魚種によっては晒肉中に筋原繊維結合型のプロテアーゼが存在し、これも戻りの要因と考えられている。^{10,11)}

以上述べたように、水晒しはゲル形成に働く様々な

因子を除去することから、無晒肉と晒肉についてゲル化特性を調べる必要があると考えられた。

これまで無晒肉のゲル化特性については多くの魚種で調べられてきたが、¹²⁾同一魚種の無晒肉と晒肉のゲル化特性を比較した報告は見あたらない。

本研究では魚種ごとに無晒肉と晒肉のゲル化特性を把握することから始め、原料学および製造学的見地からこれら魚肉の特性を明らかにした。^{13,14)}その過程で供試した魚種は戻りの発現型式から4グループに大別され、水晒しをすると戻りが誘発される魚種を見出した。これらの結果に基づき、戻り発現型式に応じた水晒しあるいは坐りの有用性について検討した。^{15,16)}併せて無晒肉中の戻り抑制因子の存在を明らかにし、その性質を検討した。^{17,18)}

2. 土佐湾産魚類のゲル化特性について

戻り発現に及ぼす水晒しの影響を調べることを目的に、高知県沖で漁獲される雑魚19種について無晒肉と晒肉の温度-ゲル化曲線を比較することにより、板付きかまぼこ原料としての適否ならびに適切な使用方法について検討した。その中で晒処理をすることによって40-50℃で戻りを誘発する魚種が存在することを新たに認め、水晒し処理による戻りの現れ方の違いから、これらの魚種は次の4種に大別することができた。

I型：無晒肉と晒肉が共に戻り現象を示さない魚種 3種(ヒメコダイ、ツマグロアオメエソ、クラカケトラギス)

II型：無晒肉では60℃付近で戻りが認められるが、水晒しによって戻らなくなる魚種 3種(マツバゴチ、ワキヤハタ、アオメエソ)

III型：無晒肉と晒肉が共に50-70℃で戻りを起こす魚種 6種(ナンヨウキンメ、カガミダイ、スミクイウオ、ヨロイイタチウオ、ヨメゴチ、ソコアマダイモドキ)

IV型：IIおよびIII型とは異なり、無晒肉では60℃付近で戻りが起こるが、水晒しによって新たに40-

*1 Development of Fish Meat Gel Production Methods on the Basis of *Modori-phenomenon*.

*2 Akira Nomura.

*3 Kochi Prefectural Industrial Technology Center, Nunoshida, Kochi 781-5101, Japan.

50℃で戻りが発現する魚種7種(ゴテンアナゴ、ユメカサゴ、カナド、ニギス、アラ、ミドリフサアンコウ、アカムツ)

これらの結果から、水晒しはⅠ型、Ⅳ型では必要がないと考えられた。また、Ⅱ型では戻らなくなるので、Ⅲ型ではゲル形成能が高められるので、各々で水晒しは必要であると考えられた。各魚種のねり製品原料としての適否を検討するため、80℃、20分間加熱したゲルの伸び率に対する破断強度を比較した。80℃でのゲル強度は坐りおよび戻りの両温度帯を通過した後のそれであり、原料魚のゲル形成能を判定するのに適していると考えたからである。その結果、いずれについてもゲル強度に関係なく、ほぼ破断伸び率と引っ張り強度は比例していた。Ⅰ～Ⅳ型各魚種無晒肉のゲル形成能の強さはⅠ>Ⅱ>Ⅲ≧Ⅳ、晒肉ではⅠ>Ⅱ>Ⅲ>Ⅳの順であった。

次に、戻り現象とタンパク質分子挙動との関連を探るためにⅠ～Ⅳ型各魚種の無晒肉および晒肉加熱ゲルのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)像を調べた結果、戻り現象の認められたⅡ型の無晒肉およびⅢ型とⅣ型の無晒肉と晒肉では、戻りの温度帯でのミオシン重鎖(HC)の分解が認められた。ただし、これらの分解物の生成量は魚種によって差が認められた。

3. 戻り発現条件が異なる魚種に対する二段加熱効果の差異

かまぼこの弾力増強法の一つに、塩ずり身をあらかじめ40～50℃で加熱し、次いで本加熱をする方法があり、予備加熱時での坐りが進行するにしたがって二段加熱ゲルの弾力も増強されることが報告されている。¹⁹⁾この方法はスケトウタラやグチ類にはきわめて有効であるとされているが、原料魚の種類および鮮魚によっては製品の弾力が低下する場合もあることが報告されている。¹⁹⁾

上述したように、晒すことによって40℃付近で戻りが発現するⅣ型魚種では二段加熱法は弾力を低下させるものと予測されたので、この点を明らかにするために戻りの発現状況から大別した4グループの魚の無晒肉と晒肉について、ゲル強度に及ぼす二段加熱(40℃で所定時間加熱した後、80℃で20分加熱)の効果と比較検討した。

ⅠおよびⅡ型の無晒肉と晒肉から調製した二段加熱ゲルの強度は、それぞれの40℃加熱ゲルおよび80℃、20分直接加熱ゲルより強く、40℃での予備加熱の効果

が認められた。SDS-PAGEから40℃加熱ゲル、二段加熱ゲル共にHCの分解は認められず、アクリルアミドゲル上部に高分子物質の生成が認められた。

Ⅲ型魚の二段加熱ゲルは80℃、20分直接加熱ゲルの強度よりも強く、40℃での予備加熱の弾力増強効果は認められたが、Ⅰ、Ⅱ型魚とは異なり、二段加熱ゲルの強度は40℃での単独加熱ゲルよりも弱くなった。またSDS-PAGEからは40℃加熱ゲルと二段加熱ゲル共にHCの分解は認められなかったが、HCの量はⅠおよびⅡ型魚より多く、高分子物質の生成は少なかった。

Ⅳ型魚の無晒肉では二段加熱ゲルは80℃、20分直接加熱ゲルより強く、40℃での予備加熱は弾力を増強させる効果があると考えられた。一方、晒肉では40℃での予備加熱時間が長くなるにつれて二段加熱ゲルの劣化は著しくなった。SDS-PAGEから無晒肉では40℃加熱ゲルおよび二段加熱ゲル共に40℃での加熱に伴うHC量の変化は認められないのに対し、晒肉では加熱時間が長くなるほど両ゲルのHCの減少が著しくなり、それに伴って分解物が増加した。

これらのことから、Ⅳ型魚種の晒肉のように、塩ずり身を40℃で加熱した際にHCの分解が生じると、80℃で再加熱しても得られるゲルの強度は低下することならびにHCの分解が戻りと密接に関係していることが明らかとなった。

4. 水晒しによって誘発される40℃付近の戻りに対する水溶性タンパク質画分の抑制効果

ねり製品工場では雑魚を利用する場合、ゲル形成能の優れているⅠおよびⅡ型魚以外はほとんどが分別されることなく採肉され、血液や脂質を除くために水晒しが行われる。Ⅳ型魚が混合している晒肉をねり製品工場で有効に利用するために、高級品の原料として利用されているⅠまたはⅡ型魚の肉と混合した場合のゲル形成に及ぼす影響について検討した。また、この過程で、無晒肉を混合した場合、40℃付近での戻りが抑制されることがわかったので、魚肉の水溶性タンパク質画分の戻り抑制効果についても併せて検討した。

Ⅰ型魚の無晒肉を混合した場合には、Ⅳ型魚の晒肉で発現する40℃付近の戻りは認められなかった。また、混合肉の温度-ゲル強度曲線およびSDS-PAGE像はⅠ型魚無晒肉のものと類似しており、得られた加熱ゲルはⅣ型魚晒肉単独のものよりゲル強度が強かった。それに対して、Ⅰ型魚の晒肉を混合した場合、40℃付近での加熱ゲルの劣化が、また、SDS-PAGE像からはHCの分解が認められ、Ⅳ型魚晒肉に起因すると思

われる戻りが発現した。一方、Ⅱ型魚との混合では、無晒肉を混合した場合に60℃での戻りが誘発された以外はⅠ型魚と同様の結果になった。

以上の結果、Ⅳ型魚の晒肉にⅠまたはⅡ型魚の無晒肉を混合した場合には、Ⅳ型魚の晒肉単独の場合に発現する40℃付近の戻りが抑制されたことから、Ⅰ、Ⅱ型魚共に水晒しによって除去される成分がこの戻りを抑制しているものと考えられた。このように、Ⅳ型魚晒肉を用いる場合にはかまぼこゲル形成能が強く、また40℃で戻りの発現しないⅠ型魚の無晒肉と混合することが最も有効であり、それ以外のⅠまたはⅡ型魚肉との混合も加熱工程に配慮することによって有効であることが明らかとなった。

Ⅳ型魚晒肉で認められる40℃付近の戻りに対して無晒肉による抑制効果を確認するために水溶性タンパク質画分をⅣ型魚晒肉に添加してその効果を調べた。その結果、水溶性タンパク質画分を添加した加熱ゲルでは、40℃付近の戻りは抑制され、HCの分解も起こらなかったが、脂質を添加した場合には戻りおよびHCの分解は抑制されなかった。以上のことから、水晒しによって除去される、脂質以外の成分にⅣ型魚晒肉で発現する40℃付近の戻りを抑制する効果のあることが認められた。

5. 水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の存在

Ⅳ型魚晒肉の戻りが水溶性タンパク質画分の添加によって抑制されたことから、水溶性タンパク質画分中にはHC分解抑制因子が存在することを推測した。そこで、水溶性タンパク質画分からこの因子の分離精製を試み、その存在を確認することを目的として実験を行った。

Ⅳ型魚のカナドおよびユメカサゴの無晒肉をイオン強度の異なる溶媒で抽出して分解抑制効果を調べたところ、その因子は水で抽出されることがわかった。この水抽出画分をバッチ式のDEAEイオン交換で分画すると、0.1M NaClで溶出する画分に抑制効果が認められた。水抽出画分を飽和硫酸で分画したところ、50~70%飽和の沈殿に認められた。なお、これらの画分のSDS-PAGE像には、まだ多数のタンパク質成分が認められたが、飽和度の低い硫酸で比較的高分子側の成分が除去され、バッチ式イオン交換処理では逆に比較的低分子成分が除去された。そこで、水抽出画分をバッチ式イオン交換にかけた後、硫酸分画を行い、さらにゲル濾過にかけて精製効果を上げることを試み

た。すなわち水抽出画分をDEAEトヨパール650によるバッチ式イオン交換にかけ、0.1M NaCl溶出画分を得た。この硫酸50%飽和の沈澱を除去した後、70%飽和の沈澱を回収した。硫酸を除去したのち、Sephacryl S300ゲル濾過すると、いずれの魚種からほぼ単一のピークを示す溶出曲線が得られ、その溶出位置も同一であった。

この主ピークを示す画分(G)をⅣ型魚カナドの晒肉に添加してHC分解抑制効果を調べたところ、いずれのGも、程度の差はあるもののHCの分解を抑制した。また、主ピークの成分は濾過の溶出位置(Kav)から分子量が80,000-90,000であると推定した。

この分子量はトランスグルタミナーゼ(TGase)のそれと近似していること、およびTGaseがHC間に架橋を形成させ、HCの多量化を触媒する酵素^{10,11)}であることから、この画分の成分はTGaseであることも考えられた。そこでこの点について検討したところ、水抽出画分にはTGase活性が認められたが、画分(G)では認められなかった。また、45℃で1時間加熱しても失活しないことから、TGaseとは異なるものと判断した。

以上の結果から、魚肉水溶性タンパク質画分中には晒肉の40℃付近での戻りおよびHCの分解を抑制する分子量80,000-90,000の因子の存在することが明らかになった。

6. 水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の性質並びに単離精製

戻りまたはプロテオリシスを抑制するインヒビターに関してはToyohara *et al.*²⁰⁾ならびに山下らの報告²¹⁾があり、このHC分解抑制因子がミオシン重鎖を分解するプロテアーゼに対するインヒビターと考えて更なる精製と、その性質を検討した。晒肉の40℃付近での戻りはマエソ類ではセリン型およびシステイン型プロテアーゼによることが報告されているので、³⁾この性質を明らかにするために、まずⅣ型魚晒肉の戻りに関与しているプロテアーゼのタイプを明らかにした。

Ⅳ型魚晒肉塩すり身に(STI)、フェニルメタンスルホニルフルオリド(PMSF)、アンチパイン(AP)、ロイペプチン(LP)、L-trans-エポキシスクシニルロイシルアミド-4-グアニジドブタン(E-64)、N-エチルマレイミド(NEM)ならびにエチレンジアミン四酢酸(EDTA)をそれぞれ添加後、40℃で2時間加熱したゲルのSDS-PAGE像を調べた。その結果、セリ

ン型プロテアーゼインヒビター（STI および PMSF）を添加すると HC の減少および HC とアクチンとの間の成分の生成が抑制された。システイン型プロテアーゼインヒビター（E-64 および NEM ならびに金属依存型プロテアーゼインヒビター（EDTA）では全く抑制効果は認められなかった。このことから IV 型魚晒肉で認められる 40℃ での HC の分解にはセリン型プロテアーゼが関与しているものと判断した。

上記のように IV 型魚晒肉の HC の分解にセリン型プロテアーゼが関与していることが示唆されたので、水溶性タンパク質画分中の戻り抑制因子（MDI）はセリンプロテアーゼに対するインヒビターではないかと考え、市販セリンプロテアーゼ（トリプシン、キモトリプシン）に対する粗 MDI の阻害作用について検討した。

I 型魚のヒメコダイ、IV 型魚のアカムツ、カナドおよびユメカサゴから調製した粗 MDI のトリプシンに対する阻害活性の強さは、アカムツ>カナド>ヒメコダイ>ユメカサゴの順であった。中でもアカムツが最も強く、他の魚種の 2～3 倍であった。キモトリプシンに対してはヒメコダイ≧アカムツ>カナド>ユメカサゴの順に強く、ヒメコダイとアカムツが同程度であった。ユメカサゴはトリプシンおよびキモトリプシンの阻害活性が最も弱かった。一方、システイン型プロテアーゼパインに対する阻害活性はいずれの魚種でも認められなかった。以上のことから、いずれの魚種も MDI はセリン型プロテアーゼインヒビターであることが確認された。

これまで水溶性タンパク質画分から MDI をある程度精製し、ゲル濾過では単一のピークまで分離できたが、SDS-PAGE 像で確認すると、まだ数成分のバンドが認められたので、MDI の単離精製を行った。

粗 MDI を 20mM Tris-HCl-1 mM EDTA (pH7.0) で平衡化した DEAE トヨパール 650 によるイオン交換クロマトグラフィーにかけ、阻害活性が認められた 0.1～0.15M NaCl 濃度で溶出される画分を濃縮して Sephacryl S300 でゲル濾過したところ、四つのピークに分かれた。阻害活性のある第 2 ピークを回収して SDS-PAGE を行ったところ、単一のバンドとして認められ、分子量 80,000 の単量体であることが明らかになった。また、精製段階に応じたトリプシンに対する阻害比活性は最終的に 30 倍にまで精製された。

7. まとめ

以上の結果を踏まえ、ねり製品原料魚を適切に利用

するには、①無晒肉および晒肉両者の温度ゲル化曲線を求め、それぞれのゲル化特性を把握し、それに応じた水晒しおよび加熱処理を行う。② I～IV 型の中で最も利用法が難しいと考えられる IV 型魚晒肉については戻りの発現しない I 型魚無晒肉と混合するか、戻り抑制因子を再添加する方法が考えられる。

現在、水晒し液からの戻り抑制因子の効率的な回収方法並びに魚種間でのその因子の含有量については検討中である。

謝 辞

本研究は高知大学農学部水産利用学研究室と共同で行ったものであり、遂行するにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜った高知大学名誉教授 小畠渥先生、同教授伊藤慶明先生に心から御礼申し上げます。また、数々の貴重なご助言を賜った高知大学名誉教授 故志水寛先生、実験にご協力頂いた卒業研究生の皆様ならびに本研究を遂行する機会を与えてくださった高知県工業技術センター職員の皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) P. Suwansakornkul, Y. Itoh, S. Hara, and A. Obatake : The gel-forming characteristics of Lizardfish, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1029-1037 (1993)
- 2) 志水 寛：かまぼこの足の技術．水産ねり製品技術研究会誌、2, 1-5 (1977)．
- 3) 岡田 稔：かまぼこの足に対する水晒しの影響．日水誌、30, 255-261 (1964)．
- 4) Y. Makinodan, H. Toyohara, and E. Niwa ; Implication of muscle alkaline proteinase in the textural degradation of fish meat gel. *J. Food Sci.*, 50, 1351-1353 (1985)
- 5) M. Kinoshita, H. Toyohara, and Y. Shimizu : Diverse distribution of four distinct types of modori (gel degradation)-inducing proteinase among fish species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1485-1492 (1990)
- 6) H. Toyohara, M. Kinoshita, and Y. Shimizu : Proteolytic degradation of Threadfin-bream meat gel. *J. Food Sci.*, 55, 259-260 (1990)
- 7) 森岡克司、志水 寛：魚肉ゲル形成に対する筋形質タンパク質の寄与．日水誌、56, 929-933 (1990)．
- 8) 塚正泰之、志水 寛：マイワシ肉とサバ肉の坐り特性．日水誌、56, 1105-1112 (1990)．

- 9) I. Kimura, M. Sugimoto, K. Toyoda, N. Seki, K. Arai, and T. Fujita : A study on the cross-linking reaction of myosin in *Kamaboko* "Suwari" gels. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1389-1396 (1991)
- 10) H. Toyohara, T. Sakata, K. Yamashita, M. Kinoshita, and Y. Shimizu : Degradation of oval-filefish meat gel caused by myofibrillar proteinases. *J. Food Sci.*, 55, 364-368 (1990)
- 11) M. Kinoshita, H. Toyohara, Y. Shimizu, and M. Sakaguchi : Induction of *Modori*-phenomenon (Thermal Gel Degradation) by a latent serine proteinase. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1935-1938 (1991)
- 12) 志水 寛、町田 律、竹並誠一：魚肉肉糊のゲル形成特性に見られる魚種特異性。日水誌、47, 95-104 (1981)。
- 13) 野村 明、伊藤慶明、宗圓貴仁、小畠 渥：土佐湾産魚種の戻り発現に及ぼす水晒しの影響。日水誌、59, 857-864 (1993)。
- 14) 野村 明、伊藤慶明、山本友紀、小畠 渥：原料魚の肉 pH と晒肉の40℃付近での戻り発現。日水誌、63, 103-104 (1997)。
- 15) 野村 明、伊藤慶明、西川 智、小畠 渥：戻り発現条件が異なる魚種に対する二段加熱効果の差異。日水誌、60, 667-673 (1994)。
- 16) 野村 明、伊藤慶明、豊田寛国、小畠 渥：水晒しによって誘発される40℃付近の戻りに対する水溶性タンパク質画分の抑制効果。日水誌、61, 744-749 (1995)。
- 17) 野村 明、伊藤慶明、逢坂良昭、北村有里、宮崎裕規、小畠 渥：水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の存在。日水誌、64, 878-884 (1998)。
- 18) 野村 明、伊藤慶明、八幡光一、谷脇成幸、小畠 渥：魚肉水溶性タンパク質画分中のミオシン重鎖分解抑制因子の性質並びに単離精製。日水誌、印刷中。
- 19) 岡田 稔：カマボコの足の増強法としての坐りの利用。東海水研報、No.101, 67-72 (1959)。
- 20) H. Toyohara, K. Sasaki, M. Kinoshita, Y. Shimizu, and M. Sakaguchi : Detection of inhibitors for *modori*-inducing proteinase in fish and calf serums. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 521-525 (1991)
- 21) M. Yamashita and S. Konagaya : A comparison of cystain activity in the various tissues of chum salmon between feeding and spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100A, 749-751 (1991)

地域資源の高度利用に関する研究(第1報)

機能性(抗アレルギー性、抗変異原性、脂質代謝改善)を有する資源の検索

菅野信男* 森山洋憲 杉本篤史 上東治彦 山崎裕三 久武陸夫

Studies on High Utilization of Regional Natural Resources (Part 1)

Reference of Natural Resources having Functionality

(Anti-Allergic Activity, Antimutagenicity, Inhibitory Effect on Lipase Activity)

Nobuo SUGANO Hironori MORIYAMA Atsushi SUGIMOTO
Haruhiko UEHIGASHI Yuzo YAMAZAKI Mutsuo HISATAKE

高知県の農林水産資源の食品108点、バイオマス19点、計127点の試料の機能性のうち、ヒアルロニダーゼ阻害活性、抗変異原性、リパーゼ阻害活性について、In-Vitroの方法で調べた。各試料の阻害率(抗変異原性率)を測定し、それより阻害率(抗変異原性率)50%を示すときの反応液中の濃度を求め、試料の活性の強さを比較した。活性が強いと推定される試料がヒアルロニダーゼ阻害(抗アレルギー性)で、12点、抗変異原性(発ガン予防)で43点、リパーゼ阻害活性(肥満、糖尿病の予防)では54点あった。

1. まえがき

高齢化する社会の中でますます増加する生活習慣病、医療費の負担増は社会問題になり、対策として代替医療即ち日常の食生活を通じて健康維持を図ることが大切な要件となっている。そのため人は機能性を持った食品への関心が高く、生理的機能性を持つ食品素材の開発が望まれている。

高知県は農林水産資源が豊富であり、その資源の高度利用を図ることは産業の振興上重要な課題である。そこで、それらの資源につき、1. 抗酸化性、2. 血圧上昇抑制、3. 抗変異原性、4. 抗アレルギー性、5. 脂質代謝改善、6. 血糖値上昇抑制、7. 抗菌性、8. 抗う蝕性等の機能性を調べ、食品素材等に有効活用を図るための研究を行っている。

今報告では、これらの機能性のうち抗アレルギー性、抗変異原性、脂質代謝改善について、高知県の特産物である農林資源95点、水産資源7点、林産資源6点、バイオマス関連資料19点、計127点の試料につき検討した結果を報告する。

これらの機能性を有する食品等に関して、抗アレ

ルギー性については、緑茶¹⁻³⁾、シソ⁴⁻⁵⁾、甜茶⁶⁾、コンフリー及びタイム⁷⁾、リンゴ⁸⁻⁹⁾の抽出物がアレルギー反応を抑制することが報告されている。抗変異原性では、発ガン抑制作用を検討するための手段として抗変異原性試験を野菜¹⁰⁻¹⁶⁾、キノコ¹⁶⁾、果実¹¹⁾及び様々な植物¹⁷⁾について行い、キャベツ、ブロッコリー、ゴボウ、ナス、ショウガ、ナラタケ、リンゴ、緑茶等が強い抗変異原性を有していることが、また、脂質代謝改善では、脂肪分解酵素、リパーゼの活性を阻害し、摂取した脂肪分の体内への吸収を減らすことを目的に、リパーゼ阻害物質の検索が行われ¹⁷⁻²¹⁾、薬草のカワラケツメイから阻害物質を単離したことが報告されている²¹⁾。

2. 実験方法

2.1. 試料

農産物食品95点(野菜類47点、果樹類38点、茶類8点、山菜類1点、その他1点)、林産物食品7点(キノコ類6点、木の実1点)、水産物食品6点(海草1点、川海苔5点)、バイオマス19点(農産物4点、林産物13点、水産物2点)計127点の試料、詳細を表1に示す。

技術第2部

*高知県工業技術センター特別研究員

1. 食品 108点

表1 試料一覧(1)

農産物 95点

野菜 47点										
類別	名称	区分	採取月日	産地	類別	名称	区分	採取月日	産地	
果菜類	ナス	長なす	ハウス	5月11日	安芸市	葉菜類	春菊	ハウス	5月11日	高知市
		春鈴ナス	〃	〃	春野町		ほうれん草	〃	〃	〃
		米ナス	雨よけ	7月26日	幡多		ニラ	〃	〃	〃
	キュウリ	普通ナス	露地	〃	春野町	根菜類	ヤッコネギ	ハウス	5月11日	土佐山田
		小ナス	露地	12月16日	南国市		大葉	ロックウール	12月22日	農技セ
		キュウリ	ハウス	5月11日	夜須町		〃	土耕	〃	〃
	トマト	キュウリ	露地	7月26日	佐川町	ミョウガ	ハウス土耕	5月11日	農技セ	
		トマト	ハウス	5月11日	春野町	〃	ハウスロックウール	〃	〃	
		ミニトマト	雨よけ	7月26日	土佐市	〃	露地	7月26日	土佐山村	
	ピーマン	〃	雨よけ	7月26日	大豊町	ショウガ	〃	5月11日	12月	中国
赤		ハウス	5月11日	安芸市	〃	〃	6月21日	6月14日	南国市	
ジャンボ		〃	〃	〃	サツマイモ	〃	6月14日	10月	吉川村	
シシトウ	ピーマン	露地	7月26日	越知町	ラッキョウ	芋	〃	〃	〃	
	〃	ハウス	12月14日	土佐市	豆類	スジナシンゲン	ハウス	5月11日	春野町	
	〃	露地	7月26日	南国市	穀類	アキ豆	〃	〃	高知市	
オクラ	メロン	露地	7月26日	幡多	紫黒米(朝紫)	精白米	12月14日	〃	農技セ	
	スイカ	ハウス	5月11日	春野町	〃	精白米	〃	〃	〃	
	イチゴ	〃	〃	〃	赤米(べにロマン)	精白米	〃	〃	〃	
イチョ	種	〃	〃	〃	玄米粉(焙煎)	市販品	〃	〃		
イチゴ	種	ハウス	12月14日	南国市						

果樹 38点											
名称	区分	採取月日	産地	名称	区分	採取月日	産地	名称	区分	採取月日	産地
ビワ	果実	6月14日	南国市	ミカン	果皮	5月11日	香北	ミカン	果皮	5月11日	香北
〃	種子	〃	〃	〃	果皮	12月14日	土佐山田	〃	果皮	12月14日	土佐山田
〃	果汁	〃	〃	小夏	果皮	5月11日	高知市	〃	果皮	5月11日	高知市
〃	果汁	〃	〃	ヤマモモ	果皮	6月14日	久礼町	〃	果皮	6月14日	久礼町
〃	果汁	〃	〃	スモモ	果皮	6月14日	南国市	〃	果皮	6月14日	南国市
〃	果汁	〃	〃	桃	果皮	6月14日	南国市	〃	果皮	6月14日	南国市
〃	果汁	〃	〃	グアバ	果皮	6月14日	大方町	〃	果皮	6月14日	大方町
〃	果汁	〃	〃	キャンベル	果皮	7月26日	南国市	〃	果皮	7月26日	南国市
〃	果汁	〃	〃	デラウェア	果皮	7月26日	南国市	〃	果皮	7月26日	南国市
〃	果汁	〃	〃	ギンナン	果皮	5月11日	熊本県	〃	果皮	5月11日	熊本県
〃	果汁	〃	〃	新高梨	果皮	10月	〃	〃	果皮	10月	〃
〃	果汁	〃	〃	ユズ	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	文旦	果皮	12月2日	山間試	〃	果皮	12月2日	山間試
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	ボンカン	果皮	10月	〃	〃	果皮	10月	〃
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	12月14日	須崎市	〃	果皮	12月14日	須崎市
〃	果汁	〃	〃	紫峰栗	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	10月	〃	〃	果皮	10月	〃
〃	果汁	〃	〃	丹沢栗	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃
〃	果汁	〃	〃	〃	果皮	〃	〃	〃	果皮	〃	〃

茶 8点			
名称	区分	採取月日	産地
桑茶	〃	6月1日	中村市
一番茶	〃	〃	仁淀村
グアバ茶	〃	〃	大方町
玉緑茶	〃	7月26日	大川村
ギャロン茶	〃	〃	〃
碁石茶	〃	〃	大豊町
杜仲茶	〃	〃	大野見村
マテ茶	〃	10月	南米産

山菜 1点			
名称	区分	採取月日	産地
ウド	〃	5月11日	大豊町

その他 1点			
名称	区分	採取月日	産地
乾燥アロエ	〃	6月1日	十和村

表1 試料一覧(2)

林産物 7点

類別	名称	採取月日	産地
キノコ	ブナシメジ	5月11日	佐賀県
	生椎茸	〃	大豊村
	エリンギ	〃	新潟県
	マッシュルーム	〃	高知市
	マイタケ	〃	新潟県
	乾燥椎茸	〃	
木	椎の実	7月26日	大川村

水産物 6点

類別	名称	採取月日	産地
海藻	天草	6月3日	室戸市
川海苔	青海苔	10月	仁淀川
		〃	四万十川
		〃	佐賀
		〃	中国
		〃	韓国

2. バイオマス 19点

農産物 4点

名称	採取月日	産地
吟醸酒粕	4月14日	高知県
普通酒粕	〃	〃
醤油粕	10月	〃
稲わら	〃	〃

林産物 13点

類別	名称	採取月日	産地
オガ屑	杉	6月1日	高知県
	檜	6月17日	〃
樹皮	天然檜	10月	〃
	檜	〃	〃
	天然杉	〃	〃
	杉	〃	〃
	ケヤキ	〃	〃
	ツガ	〃	〃
	桜	〃	〃
	松	〃	〃
	樅	〃	〃
	葉	イチヨウ(緑)	〃
	〃(黄)	11月16日	山間試

水産物 2点

名称	採取月日	産地
魚粉ミール	6月5日	土佐清水市
蒲鉾残滓	6月7日	須崎市

2.2. 試料の調整

各試料に対し水及び80%アルコールによる抽出を行った。即ち、乾燥試料に対しては試料重量に対し40倍量の抽出液を加え、ホモジナイザーで粉碎後、5℃で2日間抽出後、濾紙ろ過を行い、洗液を合わせて試料重量の40倍量に定容した。生試料に対しては、4倍量の抽出液で同様に処理し、4倍量に定容した。水抽出試料は凍結保存し、アルコール抽出試料は5℃保存した。生試料と乾燥試料の比較においては、乾物換算を食品成分表(1999、女子栄養大学出版部)により行い比較した。成分表に掲載されていない試料については試料を105℃、5時間加熱し、水分を測定し換算した。

2.3. ヒアルロニダーゼ阻害活性試験

測定法については、掛川ら²²⁾の方法に準じた。即ち、試料0.1 mlに酵素溶液(ヒアルロニダーゼ Type IV-S From Bovine Testes, Sigma 製) 8 mgを0.1M 酢酸緩衝液(pH4.0) 2 mlに溶解)を0.05 ml加え、37℃、20分間放置後、酵素活性化液(Compound 48/80(sigma 製) 2 mg、塩化カルシウム・二水和物15 mgを酢酸緩衝液4 mlに溶解)を0.1 ml加え、さらに37℃にて20分間放置。後基質溶液(ヒアルロン酸(From Rooster Comb Potassium Salt, Sigma 製) 8 mgを酢酸緩衝液10 mlに溶解)を0.25 ml加え、37℃、40分間反応させ、0.4N NaOH 0.1 mlを加え反応を停止した後、硼酸カリウム溶液(0.8M 硼酸水溶液100 mlに水酸化カリウム2.24 gを加え溶解)を0.1 ml加え、沸騰水浴中にて3分間加熱、室温まで冷却後、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液(p-ジメチルアミノベンズアルデヒド5 gを氷酢酸44 ml、10N 塩酸6 mlに溶解、本溶液は使用時、氷酢酸で10倍希釈する)を3 ml加え、37℃、20分間放置後、585 nmにおける吸光度(OD値)を測定した。

なお、試料の代わりに、蒸留水を入れたものを対照とし、各試料、対照について酵素溶液を入れないもの(ブランク)についても吸光度を測定して、次式により阻害活性を算出した。各試料間の阻害活性の比較は阻害率50%を示すときの反応液1 ml中での試料濃度(IC₅₀/ml)で示した。

$$\text{ヒアルロニダーゼ阻害率} = \frac{(1 - (C - D))}{(A - B)} \times 100$$

A: 対照吸光度(試料の代わりに蒸留水)

B: 対照ブランク吸光度

C: 試料吸光度 D: 試料ブランク吸光度(酵素の代わりに緩衝液を加えたもの)

なお、試料は、水抽出試料は凍結保存のものを融解し、そのまま使用し、アルコール抽出試料は、蒸発乾固しアルコールを飛ばした後、10%アルコール溶液で溶解して使用した。従って、対照は10%アルコール溶液で行った。

2.4. 抗変異原性

抗変異原性試験は、*Salmonella typhimurium* TA98株を用いる Ames test^{23, 24)}に準じた。変異原物質には Trp-P-2を用いた。小試験管に Trp-P-2溶液(0.25 µg/ml DMSO)を0.1 ml、試料を0.1 ml、0.1 M 磷酸緩衝液(pH 7.0)を0.6 ml、S9 Mix(S9と Cofacor I いずれもオリエンタル酵母製を Mixして使用)を0.1 ml 入れ良く混合し、さらに TA-98 培養液(ニュートリエントブロス培地(Neutrient Broth (Difco) 8 g, NaCl 5 gを脱イオン水1 lに溶解)10 mlに凍結保存した TA-98菌を1白金耳接種し37℃、14時間振とう培養した培養液)を0.1 ml加え、良く混合し37℃20分振とう後、45~50℃に保温したトッパアガー培地(寒天0.75 g, NaCl 0.54 g, 脱イオン水100 ml、加圧殺菌後、ピオチン-ヒスチジン溶液(D-ピオチン30.9 mg, L-ヒスチジン24.6 mgを脱イオン水250 mlに溶解し加圧殺菌)を10 ml添加した培地)を3 mlを加え、それを最小グルコース寒天培地に上層し、37℃、48時間培養した。増殖したコロニーを計数し、下記の式から抗変異原性率を算出した。

なお、最小グルコース寒天培地は以下の通り。50倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液(脱イオン水335 ml、K₂HPO₄ 250 g、クエン酸1水塩50 g、NaH₂NH₄HPO₄·4 H₂O 88 g、MgSO₄ 7 H₂O 5 g)、40%グルコース水溶液を予め作成加圧殺菌し冷蔵保存。寒天30 g、脱イオン水1860 mlを加圧殺菌し50℃に冷却後、50倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液40 ml、40%グルコース水溶液100 mlを加え、30 mlずつ10 cm シャーレに分注した。

$$\text{抗変異原率} = \frac{(1 - (C - D))}{(A - B)} \times 100$$

A: 試料の代わりに蒸留水(アルコール抽出試料の場合は DMSO)と Trp-P-2 添加したときのコロニー数

B: Aのブランク(試料、Trp-P-2の代わりに蒸留水(アルコール抽出試料の場合は DMSO)と DMSOを加えたときのコロニー数)

C: 試料、Trp-P-2を添加したときのコロニー数

D: Cのブランク(試料と Trp-P-2の代わりに DMSOを加えたときのコロニー数)

試料間の変異原率の比較は変異原率50%を示すとき

のプレート中の試料濃度 (IC₅₀用量 g/プレート) で示した。

試料は、生試料は 2 倍 (乾燥試料は 4 倍) に濃縮したものを 0.5 ミクロンのミリポアフィルターでろ過して使用した。なお、アルコール抽出試料は、蒸発乾固した後、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した後、同様に無菌ろ過して使用した。

2.5. リパーゼ阻害活性試験

測定法は志村ら²⁵⁾の方法に準じた。即ち、試験管にトリオレイン (Sigma 社製) 1 ml、0.1M McIlvain 緩衝液 (pH7.4) 7ml、試料 1 ml、豚膵リパーゼ (Sigma 社製、Type II) (0.71mg/McIlvain 緩衝液) 1 ml を加え攪拌し、37℃、1 時間振とう後、エタノール 20ml を加え反応を停止し、生成した脂肪酸を 0.1N NaOH により滴定した。

次式により阻害活性 (%) を算出した。

$$\text{阻害率} = (1 - (C - D) / (A - B)) \times 100$$

ただし、A：試料の代わりに試料が水抽出のときは蒸留水、80% アルコールのときは 80% アルコールを加

えたときの滴定値

B：A のブランク (酵素溶液の代わりに 0.1M McIlvain 緩衝液を加えたときの滴定値)

C：試料添加したときの滴定値

D：試料ブランク (酵素溶液の代わりに 0.1M McIlvain 緩衝液を加えたときの滴定値)

各試料間の阻害活性の比較は阻害率が 50% のときの反応液 1 ml 中での試料濃度 (IC₅₀/ml) で示した。

3. 実験結果

3.1. ヒアルロニダーゼ阻害活性

ヒアルロニダーゼはヒアルロン酸の加水分解酵素であり I 型アレルギー (即時型) に関与するヒスタミンと同時に肥満細胞や好塩基球から脱顆粒により遊離する。本酵素は炎症に深く関与する酵素であるとされ、数種の抗アレルギー薬においてヒアルロニダーゼの阻害と肥満細胞からのヒスタミンの遊離抑制に正の相関が認められている²²⁾。

各試料の阻害率と IC₅₀ (g/ml) を表 2 に示す。

表 2 ヒアルロニダーゼ阻害活性 (1)

類別	名称	区分	ヒアルロニダーゼ阻害率 (%)		IC ₅₀ (g/ml)		
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出	
農産物	果菜類	長なす	ハウス	4.50	0.36	0.55(0.033)	6.889
		春鈴ナス	〃	4.90	1.98	0.51(0.031)	1.260
	米ナス	雨よけ	21.30	2.45	0.117(0.007)	1.020	
	普通ナス	露地	2.40	1.75	1.042	1.429	
	〃	ハウス	0.00	0.00			
	小ナス	露地	11.90	4.30	0.21(0.013)	0.581	
	キュウリ	ハウス	8.70	1.25	0.287(0.011)	2.000	
	〃	露地	4.30	1.81	0.581	1.379	
	トマト	ハウス	15.20	11.10	0.164(0.008)	0.225(0.011)	
	〃	雨よけ	4.00	1.30	0.625	1.923	
	ミニトマト	ハウス	13.40	7.02	0.187(0.009)	0.356	
	〃	雨よけ	1.20	4.61	2.083	0.542	
	赤ピーマン	ハウス	9.50	2.77	0.263(0.018)	0.902	
	ジャンボピーマン	〃	9.50	10.72	0.263(0.018)	0.233(0.016)	
	ピーマン	〃	0.00	0.00			
	〃	露地	10.50	1.30	0.233(0.017)	1.923	
	シシトウ	ハウス	0.00	1.10		2.271	
	〃	露地	9.30	1.70	0.294(0.026)	1.471	
	オクラ	〃	16.70	2.35	0.15(0.017)	1.064	

() 内数値は乾物量換算値 (食品成分表、1999、女子栄養大学出版より)

表2 ヒアルロニダーゼ阻害活性(2)

類別	名称	区分	ヒアルロニダーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)		
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出	
葉菜類	メロン(果肉)	ハウス	6.80	2.74	0.368	0.911	
	〃(果皮)		6.70	0.04	0.373	62.000	
	〃(種子)		2.80	33.49	0.893	0.075(0.053)	
	スイカ(果肉)	ハウス	9.70	3.19	0.258	0.785	
	〃(果皮)		9.30	2.47	0.269	1.014	
	〃(種子)		9.70	0.63	0.258	4.000	
	イチゴ	ハウス	0.00	0.00			
	春菊	〃	6.30	4.03	0.397	0.620	
	ほうれん草	〃	4.50	2.01	0.556	1.244	
	ニラ	〃	6.90	2.07	0.362	1.208	
	ヤッコネギ	〃	3.50	3.03	0.714	0.824	
	根菜類	大葉	ロック	2.99	23.50	0.835	0.106(0.011)
〃		土耕	0.00	19.74		0.127(0.013)	
ミョウガ		ロック	0.40	0.20	6.250	12.750	
〃		土耕	3.20	0.14	0.781	17.333	
〃		露地	9.40	1.40	0.266(0.016)	1.786	
ショウガ		〃	1.60	1.98	1.563	1.262	
〃(中国産)			0.00	0.00			
豆類	ラッキョウ		3.60	1.70	0.694	1.471	
	スジナシンゲン	ハウス	6.80	0.46	0.368	5.444	
	アキ豆	〃	4.00	2.41	0.625	1.039	
穀類	サツマイモ		4.20	3.24	0.595	0.722	
	里芋		0.11	0.27	23.200	9.240	
	紫黒米(精米)		0.00	0.23		1.100	
	〃(糠)		0.00	7.01		0.036(0.031)	
	赤米(精白米)		0.00	0.32		0.781	
	〃(糠)		1.52	7.74	0.164	0.032(0.028)	
	玄米粉(焙煎)		2.28	0.00	0.110		
	果実類	ピワ(果肉)		1.10	10.30	2.273	0.242(0.026)
		〃(果皮)		6.00	0.70	0.417	3.571
		〃(種子)		1.60	56.50	0.781	0.044(0.031)
ミカン(果肉)		ハウス	12.70	6.80	0.197(0.026)	0.368	
〃(果皮)		〃	1.60	5.25	1.563	0.476	
〃(果肉)		露地	0.00	0.00			
〃(果皮)		〃	0.00	0.00			
小夏(果肉)		ハウス	12.40	4.07	0.202(0.020)	0.615	
〃(果皮)		〃	7.90	3.84	0.316	0.651	
ヤマモモ(果肉)			26.40	14.93	0.095(0.009)	0.167(0.017)	
〃(種子)		0.46	15.30	5.433	0.162(0.114)		
スモモ(果肉)			14.10	50.40	0.177(0.018)	0.050(0.005)	
	〃(果皮)		85.20	27.68	0.029(0.004)	0.090(0.014)	

表2 ヒアルロニダーゼ阻害活性(3)

類別	名称	区分	ヒアルロニダーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
茶	スモモ(種子)		14.30	6.75	0.175(0.123)	0.370
	桃(果肉)		3.33	1.15	0.750	2.167
	〃(果皮)		9.12	20.20	0.274	0.124(0.019)
	グァバ		0.30	—	8.333	—
	キャンベル(果肉)		9.20	0.77	0.272	3.245
	〃(果皮)		4.60	33.19	0.543	0.075(0.011)
	デラウェア(果肉)		0.70	12.82	3.571	0.195(0.029)
	〃(果皮)		10.90	45.77	0.229(0.034)	0.055(0.008)
	ギンナン		1.60	26.13	1.563	0.096(0.041)
	新高梨(果肉)		48.15	0.00	0.052(0.006)	
	〃(果皮)		28.80	2.00	0.087(0.013)	1.250
	ユズ(果肉)		72.31	34.19	0.035(0.004)	0.037(0.004)
	〃(果皮)		0.00	0.00		
	〃(袋)		2.37	8.66	1.055	0.289
	〃(種子)		0.00	1.03		2.429
	〃(果汁)		50.69	—	0.049	
	〃(果汁粕)		0.00	0.00		
	文旦(果肉)		0.00	0.00		
	〃(果皮)		5.46	8.26	0.458	0.303
	ポンカン(果肉)		0.00	0.00		
	〃(果皮)		0.00	11.21		0.223(0.033)
	紫峰栗(果肉)		0.00	10.19		0.245(0.098)
	〃(外皮+渋皮)		46.18	99.8	0.054(0.032)	0.018(0.011)
	丹沢栗(果肉)		1.53	3.47	1.632	0.721
	〃(外皮+渋皮)		11.39	88.90	0.219(0.131)	0.028(0.017)
	桑茶		45.80	6.67	0.005(0.005)	0.038(0.036)
	一番茶		14.50	100.90	0.018(0.017)	0.002(0.002)
	グァバ茶		77.80	100.00	0.003(0.003)	0.002(0.002)
	玉緑茶		15.40	100.80	0.016(0.015)	0.002(0.002)
	ギャバロン茶		19.10	99.50	0.013(0.012)	0.002(0.002)
	碁石茶		32.50	66.70	0.008(0.008)	0.007(0.007)
	杜仲茶		25.10	27.00	0.010(0.010)	0.019(0.018)
	マテ茶		21.27	69.58	0.012(0.010)	0.004(0.004)
山菜	ウド		2.70	2.23	0.926	1.119
その他	乾燥アロエ		2.30	1.70	0.109(0.098)	0.147(0.128)
林産物	ブナシメジ		6.60	2.55	0.379(0.034)	0.981
	生椎茸		4.50	2.50	0.556	1.000
	エリンギ		3.50	0.42	0.714	6.000
	マッシュルーム		0.70	2.93	3.571	0.855
	マイタケ		6.60	1.20	0.379	2.083
	乾燥椎茸		0.76	1.75	0.329	0.143(0.124)

表2 ヒアルロニダーゼ阻害活性(4)

類別	名称	区分	ヒアルロニダーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
水産物	椎の実		8.00	15.42	0.313	0.162(0.103)
	天草		0.90	3.44	0.278	0.073(0.064)
	川海苔(仁淀川)		25.90	2.02	0.020(0.018)	0.124
	〃(四万十川)		62.20	0.86	0.009(0.008)	0.289
	〃(佐賀)		29.40	1.73	0.018(0.016)	0.144
	〃(中国産)		85.70	1.10	0.002(0.002)	0.228
	〃(韓国産)		23.00	0.52	0.024(0.022)	0.485
バイオマス						
農産物	吟醸酒粕		13.70	18.30	0.182(0.091)	0.137(0.068)
	普通酒粕		12.40	7.90	0.202(0.101)	0.316
	醤油粕		2.65	3.10	0.944	0.808
	稲わら		—	0.78	—	0.323
林産物	杉オガ屑		2.38	5.13	0.105	0.049(0.043)
	檜オガ屑		6.67	3.58	0.038(0.033)	0.070(0.061)
	天然檜樹皮		1.39	6.46	0.180(0.160)	0.039(0.035)
	檜樹皮		2.44	3.78	0.103(0.092)	0.066
	天然杉樹皮		0.99	2.69	0.252	0.093
	杉樹皮		1.84	2.11	0.136(0.121)	0.119
	ケヤキ樹皮		1.46	0.21	0.171	1.170
	ツガ樹皮		14.63	13.92	0.017(0.015)	0.018(0.016)
	桜樹皮		1.07	3.60	0.234	0.069
	松樹皮		1.46	0.63	0.171	0.394
	樅樹皮		3.22	0.09	0.078(0.070)	2.700
	イチョウ(葉緑)		0.00	0.86		2.892
	〃(葉黄)		0.00	18.27		0.137(0.027)
	水産物	魚粉ミール		1.60	1.04	0.156(0.136)
蒲鉾残滓			1.90	0.00	1.316	
対照	柴朴湯		2.86	17.30	0.087(0.082)	0.014(0.013)
	クロモフェロモン 点眼液		94.40	—	0.0004	—

対照に行った抗アレルギー薬として知られる漢方薬の柴朴湯の水抽出では、IC₅₀は0.087g、アルコール抽出では、0.014gで、クロモフェロモン点眼液では、0.0004gであった。試料の水抽出では、川海苔(中国産)が最も強く、IC₅₀が0.001g/ml、ついで、茶類のグァバ茶、桑茶、果実のユズ(果肉)、スモモ(果皮)が強かった。川海苔はその他、四万十川産、仁淀川産、佐賀産にも活性がみられた。アルコール抽出試料では、

一番茶、グァバ茶、玉緑茶、ギャバロン茶が強く、それぞれIC₅₀が0.002gを示し、ついで、果実のヤマモモ(果肉)、ユズ(果肉)、紫峰栗(渋皮+外皮)、丹沢栗(渋皮+外皮)が強よい活性を示した。IC₅₀の値が0.005g以下を強い試料、0.006g~0.009gをやや強い試料、0.010~0.019gとそれ以上の濃度でも阻害率20%以上の阻害率を示したものを活性有りとして表3に示した。

表3 機能性を有する資源
(ヒアルロニダーゼ阻害活性)

抽出区分	活性	類	別	名 称
水	強い	農産物	茶 類	グアバ茶、桑茶
			果 実 類	ユズ(果肉)、スモモ(果皮)
		水産物	川海苔	中国産
	やや強い	農産物	野 菜	米ナス(雨よけ)、トマト(ハウス)、ミニトマト、(ハウス)
			果 実	ヤマモモ(果肉)、新高梨(果肉)、紫峰栗(渋皮+外皮)
			茶	碁石茶、杜仲茶、マテ茶
	水産物	川海苔	四万十川、	
有 り			ハウス小ナス、ハウスキュウリ、赤ピーマン、ジャンボピーマン、露地ピーマン、露地オクラ、露地ミョウガ、スモモ(果肉)、ユズ果汁、川海苔(仁淀川、佐賀)、一番茶、玉緑茶、梅樹皮	
アルコール	強い	農産物	果 実	スモモ(果肉)、ユズ(果肉)、紫峰栗(渋皮+外皮)、丹沢栗(渋皮+外皮)
			茶	グアバ茶、一番茶、玉緑茶、ギャバロン茶、マテ茶
	やや強い	農産物	果 実	デラウェア(果皮)
			茶	桑茶、碁石茶
	有 り			ハウストマト、ジャンボピーマン、大葉(ロック、土耕)、紫黒米(糠)、メロン(種子)、ヤマモモ(果肉)、スモモ(果肉)、桃(果皮)、キャンベル(果皮)、ギンナン、杜仲茶、ツガ樹皮、イチョウ(黄葉)

3.2. 抗変異原性

Trp-P-2に対する抗変異原活性を検討した結果を表4

Sal. typhimurium TA 98株を用いた系での各試料の

に示した。

表4 抗変異原性(1)

類 別	名 称	区 分	抗変異原率(%)		IC ₅₀ (用量g/プレート)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
農産物 果菜類	長なす	ハウス	1.76	21.90	1.424	0.114(0.007)
	春鈴ナス	〃	25.27	22.40	0.099(0.006)	0.112(0.007)
	米ナス	雨よけ	85.20	24.50	0.029(0.002)	0.102(0.006)
	普通ナス	露 地	66.20	32.20	0.019(0.001)	0.078(0.005)
	〃	ハウス	90.80	40.60	0.028(0.002)	0.062(0.004)
	小ナス	露 地	60.22	44.80	0.042(0.003)	0.056(0.003)
	キュウリ	ハウス	45.53	30.20	0.055(0.003)	0.083(0.004)
	〃	露 地	0.00	13.80		0.181(0.009)
	トマト	ハウス	45.06	19.10	0.055(0.003)	0.131(0.007)
	〃	雨よけ	31.23	33.80	0.080(0.004)	0.074(0.004)
	ミニトマト	ハウス	17.33	41.30	0.144(0.007)	0.061(0.003)
	〃	雨よけ	56.79	20.50	0.044(0.002)	0.122(0.011)
	赤ピーマン	ハウス	38.72	23.00	0.065(0.005)	0.109(0.008)
	ジャンボピーマン	〃	20.21	18.90	0.124(0.009)	0.132(0.009)

()内数値は乾物量換算値(食品成分表、1999、女子栄養大学出版より)

表4 抗変異原性(2)

類別	名称	区分	抗変異原率(%)		IC ₅₀ (用量g/プレート)		
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出	
葉菜類	ピーマン	ハウス	0.00	48.00		0.052(0.004)	
	〃	露地	0.00	35.20		0.071(0.005)	
	シシトウ	ハウス	2.60	46.10	0.950	0.054(0.005)	
	〃	露地	26.00	46.70	0.096(0.009)	0.054(0.005)	
	オクラ	〃	0.00	38.40		0.065(0.007)	
	メロン(果肉)	ハウス	80.52	31.00	0.031(0.004)	0.081(0.011)	
	〃(果皮)		79.69	27.20	0.031(0.005)	0.092(0.014)	
	〃(種子)		22.29	25.30	0.112(0.078)	0.099(0.069)	
	スイカ(果肉)	ハウス	40.50	13.10	0.062(0.006)	0.191(0.019)	
	〃(果皮)		15.31	0.00	0.163(0.024)		
	〃(種子)		45.23	74.20	0.055(0.039)	0.034(0.024)	
	イチゴ	ハウス	41.20	51.50	0.061(0.006)	0.049(0.005)	
	春菊	〃	0.26	44.30	9.750	0.056(0.005)	
	ほうれん草	〃	43.95	38.30	0.057(0.006)	0.065(0.007)	
	ニラ	〃	49.59	38.50	0.050(0.004)	0.065(0.005)	
	ヤッコネギ	〃	21.53	27.40	0.116(0.010)	0.091(0.008)	
	大葉	ロック	77.50	98.50	0.032(0.003)	0.025(0.003)	
	〃	土耕	70.40	84.60	0.036(0.004)	0.030(0.003)	
	根菜類	ミョウガ	ロック	63.10	38.10	0.040(0.004)	0.066(0.004)
		〃	土耕	68.60	21.90	0.036(0.004)	0.114(0.007)
〃		露地	88.20	21.20	0.029(0.003)	0.236(0.014)	
ショウガ		〃	98.81	37.30	0.025(0.002)	0.067(0.006)	
〃(中国産)			77.70	44.20	0.032(0.003)	0.057(0.005)	
ラッキョウ			27.59	0.00	0.091(0.013)		
豆類	スジナシインゲン	ハウス	37.69	34.40	0.066(0.007)	0.073(0.007)	
	アキ豆	〃	14.84	27.90	0.168(0.042)	0.090(0.023)	
穀類	サツマイモ		39.57	0.00	0.063(0.020)		
	里芋		0.00	0.00			
	紫黒米(精米)		0.00	0.00			
	〃(糠)		41.90	13.60	0.012(0.010)	0.037	
	赤米(精白米)		0.00	0.80		0.641	
	〃(糠)		7.70	9.80	0.065(0.057)	0.051	
	玄米粉(焙煎)		0.00	5.70		0.087	
	ピワ(果肉)		45.57	41.40	0.055(0.007)	0.060(0.008)	
	〃(果皮)		59.86	40.30	0.042(0.006)	0.062(0.009)	
	〃(種子)		41.58	20.20	0.060(0.042)	0.124(0.087)	
果実類	ミカン(果肉)	ハウス	93.54	17.10	0.027(0.004)	0.146(0.015)	
	〃(果皮)		96.50	42.70	0.026(0.004)	0.059(0.009)	
	〃(果肉)	露地	23.50	32.20	0.106(0.011)	0.078(0.008)	
	〃(果皮)		33.50	30.70	0.075(0.011)	0.082(0.012)	
	小夏(果肉)	ハウス	81.10	16.20	0.031(0.003)	0.154(0.015)	

表4 抗変異原性(3)

類別	名称	区分	抗変異原率(%)		IC ₅₀ (用量g/プレート)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
	小夏(果皮)		94.8	58.00	0.026(0.004)	0.043(0.006)
	ヤマモモ(果肉)		65.99	57.40	0.038(0.004)	0.044(0.004)
	〃(種子)		39.15	99.40	0.064(0.045)	0.025(0.018)
	スモモ(果肉)		10.25	41.60	0.244(0.024)	0.060(0.008)
	〃(果皮)		74.91	29.90	0.033(0.005)	0.084(0.013)
	〃(種子)		46.40	31.70	0.054(0.038)	0.079(0.055)
	桃(果肉)		0.00	0.00		
	〃(果皮)		0.00	66.00		0.038(0.006)
	グァバ		0.00	—		
	キャンベル(果肉)		0.00	52.30		0.048(0.008)
	〃(果皮)		0.68	53.20	3.651	0.047(0.007)
	デラウェア(果肉)		1.70	37.40	1.471	0.067(0.011)
	〃(果皮)		56.98	45.90	0.044(0.007)	0.054(0.008)
	ギンナン		83.00	7.30	0.030(0.013)	0.344
	新高梨(果肉)		11.11	9.00	0.225(0.023)	0.279
	〃(果皮)		17.80	33.80	0.140(0.021)	0.074(0.011)
	ユズ(果肉)		66.50	34.60	0.037(0.004)	0.072(0.007)
	〃(果皮)		42.43	39.40	0.059(0.009)	0.063(0.009)
	〃(袋)		0.00	35.70		0.070(0.014)
	〃(種子)		71.73	43.00	0.035(0.025)	0.058(0.041)
	〃(果汁)		0.00	—		
	〃(果汁粕)		56.70	8.20	0.044(0.022)	0.304
	文旦(果肉)		0.00	39.50		0.063(0.008)
	〃(果皮)		34.60	37.50	0.072(0.011)	0.066(0.010)
	ポンカン(果肉)		20.20	0.00	0.124(0.024)	
	〃(果皮)		63.40	57.40	0.039(0.006)	0.044(0.007)
	紫峰栗(果肉)		42.06	16.90	0.059(0.024)	0.149
	〃(外皮+渋皮)		40.78	67.90	0.061(0.037)	0.037(0.022)
	丹沢栗(果肉)		4.70	10.40	0.531	0.240
	〃(外皮+渋皮)		72.63	42.80	0.034(0.020)	0.058(0.035)
茶	桑茶		69.22	99.50	0.007(0.007)	0.005(0.005)
	一番茶		88.93	100.30	0.006(0.006)	0.005(0.005)
	グァバ茶		100.50	100.50	0.005(0.005)	0.005(0.005)
	玉緑茶		98.20	100.10	0.005(0.005)	0.005(0.005)
	ギャバロン茶		99.20	99.50	0.005(0.005)	0.005(0.005)
	碁石茶		98.50	99.90	0.005(0.005)	0.005(0.005)
	杜仲茶		48.50	99.20	0.010(0.010)	0.005(0.005)
	マテ茶		74.04	80.90	0.007(0.007)	0.006(0.006)
山菜	ウド		3.56	21.90	0.703	0.114(0.006)
その他	乾燥アロエ		10.06	99.00	0.050(0.044)	0.005(0.004)
林産物	ブナシメジ		23.35	15.80	0.107(0.010)	0.159(0.014)

表4 抗変異原性(4)

類別	名称	区分	抗変異原率(%)		IC ₅₀ (用量g/プレート)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
水産物	生椎茸		8.72	26.00	0.287(0.026)	0.096(0.009)
	エリンギ		23.20	35.10	0.108(0.010)	0.071(0.006)
	マッシュルーム		20.41	28.00	0.123(0.011)	0.089(0.008)
	マイタケ		40.94	25.10	0.061(0.005)	0.100(0.009)
	乾燥椎茸		7.49	0.00	0.067(0.058)	
	椎の実		82.00	99.60	0.020(0.013)	0.017(0.011)
	天草		16.43	0.00	0.030(0.026)	
	川海苔(仁淀川)		0.00	82.90		0.006(0.006)
	〃(四万十川)		3.36	86.50	0.148	0.006(0.006)
	〃(佐賀)		0.00	73.10		0.007(0.006)
	〃(中国産)		10.53	71.10	0.048	0.007(0.007)
	〃(韓国産)		0.00	73.80		0.007(0.007)
	バイオマス					
農産物	吟醸酒粕		58.00	24.80	0.043(0.022)	0.101(0.051)
	普通酒粕		25.20	54.50	0.099(0.050)	0.046(0.023)
	醤油粕		52.86	60.40	0.047(0.024)	0.041(0.021)
	稲わら		—	50.20	—	0.010(0.009)
林産物	杉オガ屑		0.00	36.80		0.014(0.011)
	檜オガ屑		0.00	54.40		0.009(0.008)
	天然檜樹皮		0.00	63.00		0.008(0.007)
	檜樹皮		59.30	58.70	0.008(0.007)	0.009(0.008)
	天然杉樹皮		0.00	64.00		0.008(0.007)
	杉樹皮		0.00	53.60		0.009(0.008)
	ケヤキ樹皮		0.00	18.20		0.028(0.025)
	ツガ樹皮		70.20	45.60	0.007(0.006)	0.011(0.010)
	桜樹皮		0.00	39.10		0.013(0.012)
	松樹皮		0.00	33.60		0.015(0.013)
	樅樹皮		26.20	35.40	0.019(0.017)	0.014(0.012)
	イチョウ(葉緑)		6.01	36.30	0.416	0.069(0.014)
	〃(葉黄)		93.00	30.40	0.027(0.005)	0.082(0.016)
	水産物	魚粉ミール		3.98	37.60	0.126
蒲鉾残滓			0.00	38.90		0.064(0.013)

試料の抗変異原活性は全く示さないものからほぼ完全に変異を抑制(Trp-P-2を加えない場合のコロニー数と同等)するものまでであった。試料間の強さの比較を行うため、乾物換算し、抗変異原率50%を示すとき

の乾物重量/プレートが、0.001g~0.005gまでを強い、0.006g~0.009gまでをやや強い、0.01g~0.020gまでとそれ以上でも抗変異原率25%以上を示した試料を活性有りとして表5に示した。

表5 機能性を有する資源(1)
(抗変異原性)

抽出区分	活性	類	別	名 称	
水	強 い	農 産 物	野 菜	雨よけ米ナス、普通ナス(ハウス、露地)、小ナス(露地)、ハウスキュウリ、トマト(ハウス、雨よけ)、雨よけミニトマト、赤ピーマン、ハウスニラ、ハウスメロン(果肉、果皮)、大葉(ロック、土耕)、ミョウガ(ロック、土耕、露地)、ショウガ(露地)、ショウガ(中国産)	
			果 実	ハウスミカン(果肉、果皮)、ハウス小夏(果肉、果皮)、ヤマモモ(果肉)、スモモ(果皮)、ユズ(果肉)	
			茶	グァバ茶、ギャバロン茶、玉緑茶、碁石茶	
		林 産 物	マイタケ		
	バイオマス	林 産 物	イチョウ(黄葉)		
	やや強い	農 産 物	野 菜	ハウス春鈴ナス、ハウスミニトマト、ジャンボピーマン、露地シシトウ、ハウスほうれん草、ハウススイカ(果肉)、イチゴ	
			果 実	ビワ(果肉、果皮)、デラウェア(果皮)、ユズ(果皮)、ボンカン(果皮)	
			茶	桑茶、一番茶、マテ茶	
	バイオマス	林 産 物	檜樹皮、ツガ樹皮		
	有 り			ヤッコネギ、ラッキョウ、サツマイモ、スイカ(種子)、紫黒米(糠)、ビワ(種子)、露地ミカン(果肉、果皮)、ヤマモモ(種子)、スモモ(種子)、ユズ(種子)、ギンナン、、ユズ果汁粕、文旦(果皮)、ボンカン(果肉)、紫峰栗(果肉、外皮+渋皮)、丹沢栗(外皮+渋皮)、杜仲茶、ブナシメジ、マッシュルーム、椎の実、吟醸粕、普通酒粕、醤油粕、樅樹皮	
	アルコール	強 い	農 産 物	野 菜	雨よけ米ナス、普通ナス(ハウス、露地)、露地小ナス、ハウスキュウリ、雨よけトマト、ハウスミニトマト、ピーマン(ハウス、露地)、シシトウ(ハウス、露地)、ハウス春菊、ハウスニラ、大葉(ロック、土耕)、ミョウガ(ロック)、ショウガ(中国産)
				果 実	ヤマモモ(果肉)
茶				桑茶、一番茶、グァバ茶、ギャバロン茶、玉緑茶、碁石茶、杜仲茶	
その 他			乾燥アロエ		
林 産 物		椎の実			
やや強い		農 産 物	野 菜	ハウス長なす、ハウス春鈴ナス、露地キュウリ、ハウストマト、赤ピーマン、ジャンボピーマン、露地オクラ、ハウスほうれん草、ハウスヤッコネギ、ミョウガ(土耕)、ショウガ(露地)、スジナシンゲン	
			果 実	ビワ(果肉、果皮)、ハウスミカン(果皮)、露地ミカン(果肉)、小夏(果皮)、スモモ(果肉)、桃(果皮)、キャンベル(果肉、果皮)、デラウェア(果皮)、ユズ(果肉、果皮)、文旦(果肉)、ボンカン(果皮)	
			茶	マテ茶	
			山 菜	ウド	
		林 産 物	生椎茸、マッシュルーム、マイタケ、エリンギ		
水 産 物		川 海 苔	仁淀川、四万十川、佐賀、中国、韓国		
バイオマス		農 産 物	稲わら		
林 産 物	檜オガ屑、天然檜樹皮、檜樹皮、天然杉樹皮、杉樹皮				
有 り			雨よけミニトマト、メロン(果肉、果皮)、スイカ(果肉、種子)、露地ミョウガ、アキ豆、ハウスミカン(果肉)、露地ミカン(果皮)、小夏(果肉)、ヤマモモ(種子)、スモモ(果皮、種子)、デラウェア(果肉)、新高梨(果皮)、ユズ(袋、種子)、文旦(果皮)、紫峰栗(外皮+渋皮)、丹沢栗(外皮+渋皮)、ブナシメジ、普通酒粕、吟醸粕、醤油粕、杉オガ屑、ツガ樹皮、松樹皮、桜樹皮、樅樹皮、イチョウ(緑葉、黄葉)、魚粉ミール、蒲鉾残滓		

水抽出では、米ナスなど野菜類は20点、果実はハウスミカンなど8点、グアバ茶など茶類が4点、その他キノコ類のマイタケ、バイオマスのイチヨウの葉(黄色)の合計34点が強い活性と判定された。やや強いと判定された試料が17点、活性有りとなされた試料が28点あった。

アルコール試料では、普通ナス(ハウス、露地)など野菜類は17点、果実はヤマモモ(果肉)1点、茶類は桑茶など7点、その他、乾燥アロエ、林産物の椎の実の合計27点が強い活性とされ、やや強いとされた試料は、ハウス長なすなど野菜類が12点、ピワ(果肉、果実)など果実が13点、茶類はマテ茶1点、その他山菜のウド、マイタケなどキノコ類が4点、川海苔が5点、バイオマスでは、農産物の稲わら、林産物の檜才

ガ屑、天然檜樹皮など樹皮類が4点、合計41点あった。また、活性有りとなされた試料が33点あった。

3.3. リパーゼ阻害活性

リパーゼの阻害活性の測定に際し、アルコール抽出試料はそのまま使用したが、これは、トリオレインを基質(1 ml)、0.1MNaCl緩衝液(7 ml)、リパーゼ酵素溶液(1 ml)に80%アルコール(1 ml)を加えた酵素反応においては、80%アルコールの代わりに蒸留水を加えた場合と生成した脂肪酸の0.1NNaOHの滴定値に差が認められなかったことを確認したことによる。測定した結果の阻害率及びIC₅₀(g/ml)を表6に示した。

表6 リパーゼ阻害活性(1)

類別	名称	区分	リパーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
農産物						
果菜類	長なす	ハウス	11.80	34.50	0.106(0.006)	0.036(0.002)
	春鈴ナス	〃	11.80	0.00	0.106(0.006)	
	米ナス	雨よけ	15.00	0.00	0.083(0.005)	
	普通ナス	露地	50.00	14.30	0.025(0.002)	0.087(0.005)
	〃	ハウス	0.00	13.50		0.093(0.006)
	小ナス	露地	30.00	4.80	0.042(0.003)	0.263(0.016)
	キュウリ	ハウス	22.00	9.10	0.056(0.003)	0.137(0.007)
	〃	露地	60.00	13.10	0.021(0.001)	0.096(0.005)
	トマト	ハウス	11.10	0.00	0.113(0.006)	
	〃	雨よけ	35.00	14.30	0.036(0.002)	0.087(0.004)
	ミニトマト	ハウス	5.90	0.00	0.212(0.011)	
	〃	雨よけ	5.00	18.60	0.250(0.013)	0.067(0.003)
	赤ピーマン	ハウス	41.20	31.00	0.030(0.002)	0.040(0.003)
	ジャンボピーマン	〃	17.60	31.00	0.071(0.005)	0.040(0.003)
	ピーマン	〃	15.40	26.50	0.081(0.006)	0.047(0.003)
	〃	露地	17.60	19.10	0.071(0.005)	0.066(0.005)
	シシトウ	ハウス	19.10	29.70	0.066(0.006)	0.042(0.004)
	〃	露地	35.00	28.60	0.036(0.003)	0.044(0.004)
	オクラ	〃	0.00	7.20		0.175(0.019)
	メロン(果肉)	ハウス	0.00	0.00		
	〃(果皮)		0.00	15.80		0.079(0.012)
	〃(種子)		0.00	39.10		0.032(0.022)
	スイカ(果肉)	ハウス	29.40	0.00	0.043(0.004)	
	〃(果皮)		35.30	0.00	0.035(0.005)	
	〃(種子)		5.90	0.00	0.212(0.148)	

()内数値は乾物量換算値(食品成分表、1999、女子栄養大学出版より)

表6 リパーゼ阻害活性(2)

類別	名称	区分	リパーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)	
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出
葉菜類	イチゴ	ハウス	0.00	30.90		0.040(0.004)
	春菊	〃	0.00	23.80		0.053(0.005)
	ほうれん草	〃	5.90	33.30	0.212(0.021)	0.038(0.004)
	ニラ	〃	17.60	26.10	0.071(0.005)	0.048(0.003)
	ヤッコネギ	〃	29.40	31.00	0.043(0.004)	0.040(0.004)
根菜類	大葉	ロック	0.00	54.30		0.023(0.002)
	〃	土耕	0.00	41.20		0.030(0.003)
	ミョウガ	ロック	11.80	16.90	0.106(0.006)	0.074(0.004)
	〃	土耕	11.80	54.50	0.106(0.006)	0.023(0.002)
	〃	露地	5.00	21.50	0.250(0.015)	0.058(0.003)
	ショウガ	〃	0.00	26.00		0.048(0.004)
	〃(中国産)		0.00	44.60		0.028(0.003)
豆類	ラッキョウ		49.40	10.40	0.025(0.004)	0.121(0.017)
	スジナシインゲン	ハウス	23.50	4.60	0.053(0.005)	0.269
穀類	アキ豆	〃	11.80	0.00	0.106(0.027)	
	サツマイモ		45.30	34.30	0.028(0.009)	0.036(0.012)
	里芋		0.00	9.40		0.133
	紫黒米(精米)		0.00	2.70		0.046
	〃(糠)		0.00	3.30		0.038
	赤米(精白米)		0.00	2.50		0.050
	〃(糠)		0.00	6.40		0.020
	玄米粉(焙煎)		6.50	3.80	0.019(0.017)	0.033
	ピワ(果肉)		48.60	18.20	0.026(0.003)	0.069(0.007)
	〃(果皮)		55.00	19.00	0.023(0.003)	0.066(0.010)
	〃(種子)		22.90	17.40	0.055(0.039)	0.072(0.050)
	ミカン(果肉)	ハウス	0.00	26.10		0.048(0.005)
	〃(果皮)		0.00	0.00		
	〃(果肉)	露地	5.10	19.70	0.247	0.064(0.006)
	〃(果皮)		0.00	14.70		0.085(0.009)
	小夏(果肉)	ハウス	0.00	0.00		
	〃(果皮)		0.00	0.00		
	ヤマモモ(果肉)		29.70	35.10	0.042(0.004)	0.036(0.004)
	〃(種子)		17.50	81.80	0.072(0.050)	0.015(0.011)
スモモ(果肉)		26.60	40.90	0.047(0.005)	0.031(0.003)	
〃(果皮)		56.70	18.60	0.022(0.003)	0.067(0.010)	
〃(種子)		33.30	9.10	0.038(0.027)	0.137(0.100)	
桃(果肉)		0.00	0.00			
〃(果皮)		16.70	62.00	0.075(0.011)	0.020(0.003)	
グァバ		28.20	—	0.044(0.006)	—	
キャンベル(果肉)		55.00	45.70	0.023(0.004)	0.027(0.004)	
〃(果皮)		0.00	43.00		0.029(0.004)	

表6 リパーゼ阻害活性(3)

類別	名称	区分	リパーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)		
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出	
茶	デラウェア(果肉)		15.00	14.50	0.083(0.012)	0.086(0.014)	
	〃(果皮)		5.00	38.40	0.250	0.033(0.005)	
	ギンナン		0.00	52.20		0.024(0.010)	
	新高梨(果肉)		29.70	12.80	0.042(0.004)	0.098(0.010)	
	〃(果皮)		6.40	27.80	0.196(0.020)	0.045(0.007)	
	ユズ(果肉)		0.00	100.80		0.012(0.001)	
	〃(果皮)		0.00	5.20		0.240(0.004)	
	〃(袋)		0.00	1.70		0.742(0.185)	
	〃(種子)		0.00	26.30		0.047(0.033)	
	〃(果汁)		0.00				
	〃(果汁粕)		0.00	18.60		0.067(0.034)	
	文旦(果肉)		0.00	8.20		0.153(0.015)	
	〃(果皮)		3.60	0.00	0.351		
	ポンカン(果肉)		0.00	21.80		0.057(0.006)	
	〃(果皮)		0.00	24.70		0.051(0.008)	
	紫峰栗(果肉)		0.00	0.00			
	〃(外皮+渋皮)		36.80	56.10	0.034(0.020)	0.022(0.013)	
	丹沢栗(果肉)		0.00	13.20		0.095(0.038)	
	〃(外皮+渋皮)		41.40	41.30	0.030(0.012)	0.030(0.018)	
	桑茶		13.10	31.20	0.010(0.010)	0.004(0.004)	
	一番茶		26.30	31.00	0.005(0.005)	0.004(0.004)	
	グァバ茶		47.10	50.00	0.003(0.003)	0.003(0.003)	
	玉緑茶		5.90	41.30	0.021(0.020)	0.003(0.003)	
	ギャバロン茶		23.50	33.40	0.005(0.005)	0.004(0.004)	
	碁石茶		30.00	30.50	0.004(0.004)	0.004(0.004)	
	杜仲茶		60.00	37.00	0.002(0.002)	0.003(0.003)	
	マテ茶		0.00	0.00			
	(対照) 減肥茶		5.63	8.30	0.023(0.022)	0.150(0.143)	
	山菜	ウド		0.00	0.00		
	その他	乾燥アロエ		16.30	19.60	0.008(0.008)	0.006(0.006)
	林産物	ブナシメジ		0.00	0.00		
		生椎茸		0.00	0.00		
		エリンギ		0.00	16.10		0.078(0.008)
マッシュルーム			0.00	0.00			
マイタケ			3.70	9.10	0.338	0.137(0.014)	
乾燥椎茸			2.40	15.10	0.053	0.008(0.007)	
椎の実			3.80	52.10	0.333	0.024(0.015)	
天草			0.00	6.40		0.020(0.018)	
川海苔(仁淀川)			7.90	5.20	0.016	0.024(0.022)	
〃(四万十川)			0.00	4.00		0.032	
水産物	〃(佐賀)		2.00	8.80	0.063	0.014(0.013)	

表6 リパーゼ阻害活性(4)

類別	名称	区分	リパーゼ阻害率(%)		IC ₅₀ (g/ml)		
			水抽出	アルコール抽出	水抽出	アルコール抽出	
	川海苔(中国産)		9.10	3.80	0.014	0.033	
	〃(韓国産)		0.00	1.70		0.073	
バイオマス							
農産物	吟醸酒粕		35.30	28.60	0.035(0.018)	0.044(0.022)	
	普通酒粕		47.10	38.10	0.027(0.014)	0.033(0.017)	
	醤油粕		0.00	10.40		0.121	
	稲わら		—	6.50	—	0.019(0.017)	
林産物	杉オガ屑		22.00	15.90	0.006(0.005)	0.008(0.007)	
	檜オガ屑		17.20	15.90	0.007(0.006)	0.008(0.007)	
	天然檜樹皮		6.90	20.60	0.018(0.016)	0.006(0.005)	
	檜樹皮		3.40	14.20	0.037	0.009(0.008)	
	天然杉樹皮		8.60	19.50	0.015(0.013)	0.006(0.005)	
	杉樹皮		21.90	21.70	0.006(0.005)	0.006(0.005)	
	ケヤキ樹皮		4.00	11.00	0.031	0.011(0.010)	
	ツガ樹皮		17.20	20.00	0.007(0.006)	0.006(0.005)	
	桜樹皮		4.60	11.20	0.027	0.011(0.010)	
	松樹皮		4.40	12.50	0.028	0.010(0.009)	
	樅樹皮		0.00	10.50		0.012(0.011)	
	イチョウ(葉緑)		0.00	18.80		0.066(0.013)	
	〃(葉黄)		0.00	62.50		0.020(0.004)	
	水産物	魚粉ミール		5.30	11.40	0.024(0.022)	0.011(0.010)
		蒲鉾残滓		5.90	17.20	0.021(0.006)	0.096(0.029)

リパーゼ阻害の高い活性を有する試料は少なかったが、阻害活性50%を示す反応液1ml中の乾物換算重量が0.001g~0.005gを活性強いとし、0.006g~0.009gをやや強いとし、また、0.010g~0.019gを活性有りとし表7に示した。

水抽出では、雨よけ米ナスなど野菜が16点、果実はピワ(果肉、果皮)など7点、茶類は一番茶など5点、バイオマスでは、杉のオガ屑、杉樹皮の2点、合計27点が強いと判定された。やや強い試料は、ハウス

長なすなど野菜が7点、その他、サツマイモ、グアバ、乾燥アロエ、バイオマスの檜オガ屑、梅樹皮、蒲鉾残滓合計13点で、活性有りは、ミニトマトなど14点あった。

アルコール抽出では、強いは、ハウス長なすなど野菜が22点、果実がハウスミカン(果肉)など8点、茶類が桑茶など7点、バイオマスの杉オガ屑など4点合計41点あった。活性有りは、露地小ナスなど30点であった。

表7 機能性を有する資源(1)
(リパーゼ阻害活性)

抽出区分	活性	類	別	名 称	
水	強い	農産物	野菜	雨よけ米ナス、露地普通ナス、露地小ナス、キュウリ(露地、ハウス)、雨よけトマト、赤ピーマン、ジャンボピーマン、露地ピーマン、露地シシトウ、ハウスニラ、ハウスヤッコネギ、ハウススイカ(果肉、果皮)、ラッキョウ、スジナシインゲン	
			果実	ビワ(果肉、果皮)、ヤマモモ(果肉)、スモモ(果肉、果皮)、キャンベル(果肉)、新高梨(果肉)	
			茶	一番茶、グアバ茶、ギャバロン茶、碁石茶、杜仲茶	
			バイオマス	林産物	杉オガ屑、杉樹皮
	やや強い	農産物	野菜	ハウス長なす、ハウス春鈴ナス、ハウストマト、ハウスピーマン、ハウスシシトウ、ミョウガ(ロック、土耕)	
			穀類	サツマイモ	
			果実	グアバ	
			その他	乾燥アロエ	
			バイオマス	林産物	檜オガ屑、桐樹皮
				水産物	蒲鉾残滓
	有り				ミニトマト(ハウス、雨よけ)、露地ミョウガ、玄米粉(焙煎)、スモモ(種子)、桃(果皮)、デラウェア(果肉)、紫峰栗(外皮+渋皮)、丹沢栗(外皮+渋皮)、玉緑茶、吟醸酒粕、普通酒粕、天然檜樹皮、天然杉樹皮
	アルコール	強い	農産物	野菜	ハウス長なす、露地普通ナス、露地キュウリ、雨よけトマト、赤ピーマン、ジャンボピーマン、ピーマン(露地、ハウス)、シシトウ(露地、ハウス)、ハウス春菊、ハウスほうれん草、ハウスニラ、ハウスヤッコネギ、大葉(ロック、土耕)、ミョウガ(ロック、土耕、露地)、露地ショウガ、中国産ショウガ、ハウスイチゴ
				果実	ハウスミカン(果肉)、ヤマモモ(果肉)、桃(果皮)、キャンベル(果肉、果皮)、デラウェア(果皮)、ユズ(果肉、果皮)
茶				桑茶、一番茶、グアバ茶、玉緑茶、杜仲茶、ギャバロン茶、碁石茶	
			バイオマス	林産物	天然檜樹皮、杉樹皮、桐樹皮、イチヨウ(黄葉)
やや強い		農産物	野菜	ハウス普通ナス、ハウスキュウリ、	
			果実	ビワ(果肉)、露地ミカン(果肉)、新高梨(果皮)、ボンカン(果肉、果皮)	
			その他	乾燥アロエ	
			林産物	エリンギ、乾燥椎茸	
		バイオマス	林産物	杉オガ屑、檜オガ屑、檜樹皮、松樹皮、	
有り					露地小ナス、露地オクラ、メロン(果皮、種子)、ラッキョウ、サツマイモ、ビワ(果皮)、露地ミカン(果皮)、ヤマモモ(種子)、スモモ(果皮)、デラウェア(果肉)、ギンナン、新高梨(果肉)、ユズ(種子)、ユズ果汁粕、文旦(果肉)、紫峰栗(外皮+渋皮)、丹沢栗(外皮+渋皮)、マイタケ、椎の実、天草、吟醸酒粕、普通酒粕、稲わら、ケヤキ樹皮、桜樹皮、樅樹皮、イチヨウ(緑葉)、魚粉ミール、蒲鉾残滓

以上より、ヒアルロニダーゼ阻害(抗アレルギー性) 抗変異原性(発ガン予防)、リパーゼ阻害(肥満、糖尿病等の予防) 活性を持つ多くの資源を検索することができた。

今後、各機能成分を分離、精製し、食品素材化すること、さらに、In-Vitroの方法で生体調節機能を有することを実証することが課題である。

4. まとめ

高知県の特産資源のうち、農産物食品95点、林産物食品7点、水産物食品6点、バイオマス19点の試料の機能性(ヒアルロニダーゼ阻害活性、抗変異原性、リパーゼ阻害活性)を調べた。

- 1) ヒアルロニダーゼ阻害活性では、茶類(桑茶、グアバ茶、一番茶、玉緑茶、ギャバロン茶、マテ茶など)やユズ、スモモ、紫峰栗や丹沢栗の(外皮+渋皮)などの果実、川海苔(中国産)に強い活性があった。また、米ナス(ハウス)、トマト(ハウス)、ミニトマト(ハウス)などの野菜、ヤマモモ、新高梨、デラウェア(果皮)、川海苔(四万十川産)にやや強い活性がみられた。
- 2) 米なす、トマト、キュウリ、ショウガ、ミョウガなど15種類の野菜、ハウスミカン、ヤマモモ、小夏、ユズなどの果実、グアバ茶、ギャバロン茶、玉緑茶、碁石茶、桑茶、一番茶、杜仲茶などの茶類、その他乾燥アロエ、椎の実、イチヨウ(黄葉)などに強い抗変異原性が認められた。
- 3) リパーゼ阻害活性では、ユズ(果肉)に強い活性が、露地の普通ナス、露地のキュウリ、ハウス赤ピーマン、ラッキョウ、ピワ、グアバ茶、杜仲茶、イチヨウ(黄葉)に比較的強い活性がみられた。
- 4) 以上のとおり、抗アレルギー性、発ガン予防、肥満、糖尿病等の予防に有効と推定される多くの資源を検索することができた。

5. 参考文献

- 1) MATSUO, N., YAMADA, K., SHOJI, K., MORI, M. and SUGANO, M. : *Allergy*, 52, 58 (1997)
- 2) SHIRI, T., SATO, A., CHIDA, K., HAYAKAWA, H., AKIYAMA, J., IWATA, M., TANIGUCHI, M., RESHAD, K. and HARA, Y. : *Allergy Asthma Immunol.*, 79, 65 (1997)
- 3) MATSUO, N., YAMADA, K., YAMASHITA, K., SHOJI, K., MORI, M., and SUGANO, M. : *In vitro Cell Dev. Biol. Animro.*, 32, 340 (1996)
- 4) 山本浩代 : *食品と開発*, 32, 41 (1995)
- 5) IMAOKA, K., INOUE, S., TAKAHASHI, T. and KOJIMA, Y. : *Arenugi* (in japanese), 42, 74 (1993)
- 6) 中原光一 : *フードケミカル*, 9, 44 (1995)
- 7) 田中善晴、日比野英彦、仁科淳良、細越政敏、中野裕之、菅原達也 : *食品産業センター研究報告*, 25, 115 (1999)
- 8) T. KANDA et al. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 62, 7 (1998)
- 9) 穂山 浩 他 : *日本食品衛生学会第71会学術講演要旨集*, 69, 96 (1996)
- 10) KADA, T., MORITA, K. and INOUE, T. : *Mutation Res.*, 53, 351 (1978)
- 11) MORITA, K., HARA, M. and KADA, T. : *Agric. Biol. Chem.*, 42, 1235 (1978)
- 12) INOUE, T., MORITA, M. and KADA, T. : *Agric. Biol. Chem.*, 45, 345 (1981)
- 13) MORITA, K., YAMADA, H., IWAMOTO, S., SOTOMURA, H. and SUZUKI, A. : *J. Food Safety*, 4, 139 (1982)
- 14) MORITA, K., KADA, T. and NAMIKI, M. : *Mutation Res.*, 129, 25 (1984)
- 15) MORITA, K., NISHIYAMA, Y. and KADA, T. : *Agric. Biol. Chem.*, 49, 925 (1985)
- 16) 上田成子、桑原祥浩、平位信子、佐々木弘子、菅原龍幸 : *日食工誌*, 6, 507 (1991)
- 17) SATOUCHI, K., and MATSUSHITA, S. : *Agric. Biol. Chem.* 40, 889 (1976)
- 18) ISHII, C., ENDOU, Y., KIMOTO, H. and TANIGUCHI, K. : *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35, 430 (1988)
- 19) TANIGUCHI, K., ISHII, C., SUNADA, Y. and HIRAMATSU, T. : *Bull. Facul Agric Meiji Univ.*, 73, 9 (1986)
- 20) SHIMURA, S., TSUZUKI, W., KOBAYASHI, S. and SUZUKI, T. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1478 (1992)
- 21) SHIMURA, S., TSUZUKI, W., KOBAYASHI, S. and SUZUKI, T. : *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 40, 214 (1993)
- 22) KAKEGAWA, H., MATSUMOTO, H. and SATO, T. : *Chem. Pharm. Bull.* 33, 642 (1985)
- 23) AMES, B. N., DURSTON, W. E., YAMASAKI, E. and LEE, F. D. : *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 70, 2281 (1973)

24) AMES, B. N., McCANN, J. and YAMASAKI, E. :
Mutation Res., 31, 347 (1975)

25) 志村 進、都築和香子、伊藤禧男、小林昭一、鈴木建夫 : 日食工誌、41、561 (1994)

白糖を原料とした乳酸飲料の機能性について

菅野信男* 上東治彦 森山洋憲 山崎裕三 久武陸夫

Functionality of Lactic Acid Beverage Using White Rice Flour

*Nobuo SUGANO Haruhiko UEHIGASHI Hironori MORIYAMA
Yuzo YAMAZAKI Mutuo HISATAKE*

白糖を原料とし、乳酸菌と酵母の発酵によって製造した乳酸飲料の機能性を調べ、市販の清涼飲料7種と比較した。抗酸化性では、ポリフェノール含量は110~130mg/100mlあり、他の飲料と比較し多く、NBT法により調べた活性酸素の消去活性を持ち、また、 β -カロチンの退色の防止活性を指標とする試験法では、抗酸化剤のBHA(濃度1mg/100ml)より強い活性を示した。ヒアルロニダーゼの阻害活性を調べる抗アレルギー試験では、抗アレルギー剤の漢方薬、柴朴湯(250mg/ml水抽出液)と同等の活性が認められた。アンギオテンシン変換酵素に対し強い阻害活性を持ち、さらに発ガン物質のTrp-P-2に対し強い変異抑制を示したことから、この飲料は血圧上昇抑制及び発ガン抑制の活性を持つ可能性を有することが推定された。

1. はじめに

食が単なる栄養という機能だけでなく体の機能と深く関わることからより積極的な食品の生体調節機能に関する研究が進められ、食品と我々の種々の生理状態、特に高血圧症、高脂血症、糖尿病、動脈硬化症及び脳血管疾患など、いわゆる成人病との間に深い関係にあることが知られつつあることから、食品の生活習慣病に対する予防効果を解明することは大事になってきている。

清酒製造における副産物である米粉(白糖)は良質な食品素材であるでんぷん、蛋白質、食物繊維等の成分を含んでいるが、十分活用されているとはいえない。我々は食品としての利用を図る1つとして、米粉を原料とし、乳酸菌と酵母の発酵による風味良好な乳酸飲料を製造したことを報告した¹⁾。この乳酸飲料の持つ機能性即ち抗酸化性、血圧上昇抑制、抗変異原性、抗アレルギー性について検討した結果、有力な情報を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1. 試料

前報¹⁾で報告したG-P液、乳酸飲料A及びB、対照に市販飲料のA社製品(ウーロン茶、日本茶、リンゴジュース果汁20%、オレンジジュース果汁30%)、B社製品(スポーツドリンク)、C社製品(乳飲料)、D社製品(野菜ジュース)の7種、計10点

2.2. 抗酸化性の測定

抗酸化性の測定は津志田らの方法²⁾により測定した。すなわち β -カロチン溶液(100mg/100mlクロロホルム)、リノール酸(4g/100mlクロロホルム)、ツイン40溶液(20g/100mlクロロホルム)を作成し、それぞれ0.55ml, 0.55ml, 1.1mlずつを200mlの三角フラスコに取り、窒素ガス通気によりクロロホルムを完全に除去した後、110mlの蒸留水を加え溶解し、リノール酸 β -カロチン溶液を作成した。この溶液90mlに8mlの0.2M 燐酸緩衝液(pH6.8)を加え、静かに攪拌後4.9mlを試験管に分注し、0.1mlの試料を添加・混合し、素早く50℃の反応層に移し、15分後から45分後までの吸光度(470nm)の減少量を求めた。さらに求めた減少量を基準溶液のBHA溶液(1mg/100ml 0.1M 酢酸緩衝液(pH4.5)とメタノールの2:8(v/v)混合液)を添加し作成した反応液につ

技術第2部

*高知県工業技術センター特別研究員

いての吸光度の減少量で割り抗酸化活性値とした。即ち計算式は次の通りである。

試料溶液 (O.D.15min-O.D.45min) /
BHA 1 mg/100ml (O.D.15min-O.D.45min)
従って数値の低い程活性が強いことを示す。

2.3. ポリフェノール含量

ポリフェノール含量は Folin-Ciocalteu 法³⁾に従って行い、没食子酸相当量として算出した。即ち適宜希釈した試料 2 ml に、2 倍希釈の Folin 試薬 2 ml を加え、3 分後、10% (w/w) 炭酸ナトリウム溶液 2 ml を加え、30℃で30分放置した。遠心分離した後760nmでの吸光度を測定した。

2.4. 活性酸素消去能

Rosa ら⁴⁾のニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 法に従い、キサンチンオキシターゼ (X/XOD) 反応系を用い、生成した O_2^- と NBT との反応で生ずるホルマザンの吸光度 (560nm) を測定した。即ち、試験管に①0.05MN₂CO₃緩衝液 (pH10.2) 2.4ml ②3 mMキサンチン溶液 (キサンチン45.64 mg を上記緩衝液に溶解して100ml とした溶液) 0.1ml、③3 mM EDTA 溶液0.1ml、④BSA 溶液 (Bovine Serum Albumin(Sigma 製)15mgを蒸留水に溶解して100ml とする) 0.1ml、⑤0.75mM NBT 溶液 (ニトロブルーテトラゾリウム61.32mgを蒸留水に溶解して100ml とする) 0.1ml、⑥試料0.1ml を加え良く混合し、⑦酵素キサンチンオキシターゼ溶液 (キサンチンオキシターゼ懸濁液25units (和光純薬) 0.025~0.05ml を蒸留水 5 ml に希釈し、使用時に調整する) 0.1ml を加え混合して、25℃、20分反応後、⑧6 mM CaCl₂溶液0.1ml 加えて反応停止し、560nm 吸光度を測定。活性酸素消去活性の強さは下記に示す式より活性酸素の消去率として示した。従って数値の高いほど活性が強いことを示す。

活性酸素消去活性率 = $(1 - (A - B) / (C - D)) \times 100$

- A: 試料
- B: 試料のブランク (酵素の代わりに蒸留水)
- C: 対照 (試料の代わりに蒸留水)
- D: 対照のブランク (酵素の代わりに蒸留水)

2.5. 血圧上昇抑制

血圧上昇抑制は ACE (アンジオテンシン変換酵素) の阻害活性を Cushman ら⁵⁾の方法に準じた。即ち、試料0.03ml と基質 (Hip-His-Leu 0.1gとNaCl 1.046g

を0.4M 磷酸緩衝液 (pH8.5) 29.4ml に溶解) 0.25ml を加え、37℃、5 分後 ACE 溶液 (60mU/ml) を0.1ml 添加し37℃、50分間反応させた後、1 NHCL 0.25ml 添加して反応停止。さらに酢酸エチル1.5ml 加え、十分攪拌して生成した馬尿酸を抽出。3000r.p.m、10分遠心分離して、上層の酢エチ層0.8ml を試験管に分取。蒸発乾固後、蒸留水2.5ml を加え、馬尿酸を溶解して、228nm の吸光度を測定した。ACE の阻害率を下記の式から算出し、阻害活性とした。

ACE の阻害率 (%) = $(1 - (A - B) / (C - D)) \times 100$

- A: 試料を添加したときの吸光度
- B: 試料のブランク (酵素の代わりに緩衝液を加えたときの吸光度)
- C: 対照 (試料の代わりに蒸留水を加えたときの吸光度)
- D: 対照のブランク (蒸留水を加えたものに、酵素の代わりに緩衝液を加えたときの吸光度)

2.6. 抗アレルギー活性

抗アレルギー活性については、掛川ら⁶⁾の方法に準じた。即ち、試料0.1ml に酵素溶液 (ヒアルロニダーゼ (Type IV-S From Bovine Testes, Sigma 製) 8 mg を0.1M 酢酸緩衝液 (pH4.0) 2 ml に溶解) を0.05ml 加え、37℃、20分間放置後、酵素活性化液 (Compound48/80 (sigma 製) 2 mg、塩化カルシウム・二水和物15mg を酢酸緩衝液 4 ml に溶解) を0.1ml 加え、さらに37℃にて20分間放置。後基質溶液 (ヒアルロン酸 (From Rooster Comb Potassium Salt, Sigma 製) 8 mg を酢酸緩衝液10ml に溶解) を0.25ml 加え、37℃、40分間反応させ、0.4N NaOH 0.1ml を加え反応を停止した後、硼酸カリウム溶液 (0.8M 硼酸水溶液100ml に水酸化カリウム2.24gを加え溶解) を0.1ml 加え、沸騰水浴中にて3分間加熱、室温まで冷却後、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液 (p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 5 g を氷酢酸44ml、10N 塩酸 6 ml に溶解、本溶液は使用時、氷酢酸で10倍希釈する) を 3 ml 加え、37℃、20分間放置後、585nmにおける吸光度 (OD値) を測定した。

なお、試料の代わりに、蒸留水を入れたものを対照とし、各試料、対照について酵素溶液を入れないもの (ブランク) についても吸光度を測定して、次式により阻害活性を算出した。

ヒアルロニダーゼ阻害率 = $(1 - (A - B) / (C - D)) \times 100$

- A：試料吸光度
- B：試料ブランク吸光度（酵素の代わりに緩衝液を加えたもの）
- C：対照吸光度（試料の代わりに蒸留水）
- D：対照ブランク吸光度

2.7. 抗変異原性

抗変異原性試験は、*Salmonella typhimurium* TA 98 株を用いる Ames test^{7,8)}に準じた。変異原物質には Trp-P-2 を用いた。小試験管に Trp-P-2 溶液 (0.25 μg/ml DMSO) を 0.1ml、試料を 0.1ml、0.1M 燐酸緩衝液 (pH7.0) を 0.6ml、S9Mix (S9とCofacor I いずれもオリエンタル酵母製を Mix して使用) を 0.1ml 入れ良く混合し、さらに TA-98 培養液 (ニュートリエントブロス培地 (Neutrient Broth (Difco) 8 g、NaCl 5g を脱イオン水 1 l に溶解) 10ml に凍結保存した TA-98 菌を 1 白金耳接種し 37℃、14 時間振とう培養した培養液) を 0.1ml 加え、良く混合し 37℃ 20 分振とう後、45~50℃ に保温したトッパアガー培地 (寒天 0.75g、NaCl 0.54g、脱イオン水 100ml、加圧殺菌後、ピオチン-ヒスチジン溶液 (D-ピオチン 30.9mg、L-ヒスチジン 24.6mg を脱イオン水 250ml に溶解し加圧殺菌) を 10ml 添加した培地) を 3ml を加え、それを最小グルコース寒天培地に上層し、37℃、48 時間培養した。増殖したコロニーを計数し、下記の式から抗変異原性率を算出した。

なお、最小グルコース寒天培地は以下の通り。50 倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液 (脱イオン水 335ml、K₂HPO₄ 250g、クエン酸 1 水塩 50g、NaH₂NH₄ (PO₄) 4H₂O 88g、MgSO₄7H₂O 5g)、40% グルコース水溶液を予め作成加圧殺菌し冷蔵保存。寒天 30g、脱イオン水 1860ml を加圧殺菌し 50℃ に冷却後、50 倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液 40ml、40% グルコース水溶液

100ml を加え、30ml ずつ 10cm シャーレに分注した。

$$\text{抗変異原率} = (1 - (A - B) / (C - D)) \times 100$$

- A：試料、Trp-P-2 を添加したときのコロニー数
- B：A のブランク (試料と Trp-P-2 の代わりに DMSO を加えたときのコロニー数)
- C：試料の代わりに蒸留水と Trp-P-2 添加したときのコロニー数
- D：C のブランク (試料、Trp-P-2 の代わりに蒸留水と DMSO を加えないときのコロニー数)

3. 実験結果

3.1. 抗酸化性

抗酸化性の結果を表 1 に示す。ポリフェノール含量は、乳酸飲料は他のいずれの飲料よりも高い含量、A が 118.5mg/200ml、B が 130.5mg/200ml を示した。活性酸素消去活性では、ウーロン茶、日本茶、野菜ジュースが、それぞれ 100.0%、97.8%、64.9% と高かったが、乳酸飲料は、A が 52.8%、B が 38.7% とそれらについて高い活性を示した。抗酸化剤の BHA との比較における抗酸化活性では、活性酸素消去活性と同様にウーロン茶、日本茶、野菜ジュースにおいて活性が強く、乳酸飲料はそれにつぐものであった。その強さは、A が 0.72、B が 0.57 と抗酸化剤 BHA (mg/100ml 濃度) より強い活性を示した。

3.2. 血圧上昇抑制

食品中の ACE 阻害作用については多くの報告があり^{9)~14)}、それらから ACE 阻害物質が単離され、生体における血圧上昇抑制作用も評価されている^{15,16,17)}。乳酸飲料及び対照の飲料の ACE 阻害率と阻害率 50% を示すときの反応液中の濃度 IC₅₀ (ml-飲料/ml) を表 2 に示す。乳酸飲料は他のいずれの飲料よりも強く、A が 81.0%、B が 84.1% と強い阻害活性を示した。乳

表 1 各種飲料の抗酸化性

飲料	ポリフェノール含量 (mg/200ml)	SO 消去率 (%)	抗酸化活性 (BHA=1)
G-P 液	153.8	54.3	0.57
乳酸飲料 A	118.5	52.8	0.72
乳酸飲料 B	130.5	38.7	0.57
ウーロン茶 (A 社)	123.3	100.0	0.08
日本茶 (A 社)	98.3	97.8	0.18
アップルジュース果汁 20%	37.2	42.7	0.69
オレンジジュース果汁 30%	73.5	47.4	1.37
スポーツドリンク (B 社)	56.3	39.9	0.93
乳飲料 (C 社)	22.4	16.0	2.41
野菜ジュース (D 社)	64.2	64.9	0.29

表2 各種飲料のACE阻害作用

飲料	ACE阻害率(%)	IC ₅₀ (ml-飲料/ml)
G-P液	78.3	0.051
乳酸飲料 A	81.0	0.049
乳酸飲料 B	84.1	0.048
ウーロン茶(A社)	4.8	0.833
日本茶(A社)	3.3	1.212
アップルジュース果汁20%(A社)	12.0	0.333
オレンジジュース果汁30%(A社)	72.8	0.055
スポーツドリンク(B社)	7.5	0.533
乳飲料(C社)	7.1	0.563
野菜ジュース(D社)	48.2	0.083

酸飲料の阻害活性を示す成分については今後検討する予定であるが、阻害活性 IC₅₀値を蛋白質濃度(前報¹⁾表1, 4参照)で示すと、G-P液、乳酸飲料A、Bはそれぞれ、0.759mg-protein/ml、0.554mg-protein/ml、0.514mg-protein/mlであった。

3.3. 抗アレルギー性

アレルギーは発症機序によりI型からIV型に分類され、即時型の花粉症、アレルギー性鼻炎、アトピー性気管支喘息などのアレルギーはこのI型に属する。I型アレルギーはヒスタミンなどのケミカルメディエーターが放出されることにより発症することが知られている。掛川ら⁶⁾は、ヒスタミンの放出とヒアルロニダーゼ活性が相関することを、また田中ら¹⁸⁾は抗アレルギー素材の食品としてコンフリー及びタイムのヒアルロニダーゼの阻害活性(活性の強さの比較対照として抗アレルギー剤の漢方薬の柴朴湯を使用)を報告している。

対照に抗アレルギー剤の、市販漢方薬の柴朴湯(喘息、気管支炎等に効能)を水抽出し、濃度250mg/mlに調整して測定)と結膜性アレルギー薬のクロモフェロモン点眼液(主成分のクロモグリク酸ナトリウムを20mg/ml含有、10倍希釈して測定)を用いた。

各飲料のヒアルロニダーゼ阻害率と阻害率50%を示すときの反応液中での濃度 IC₅₀(ml-飲料/ml)を表3に示した。

対照の柴朴湯はヒアルロニダーゼ阻害率36.6%に対し、クロモフェロモン点眼液は98.5%と強い活性を示した。乳酸飲料は他のいずれの飲料より強い活性、Aが32.6%、Bが45.1%を示し、柴朴湯とほぼ同じ強さの活性を示した。

抗アレルギーを示す成分にポリフェノールが報告されている。G-P液、乳酸飲料A、Bの IC₅₀値ポリフェノール濃度で示すと、それぞれ0.277mg/ml、0.367mg/ml、0.287mg/mlであった。

表3 各種飲料の抗アレルギー性

飲料	ヒアルロニダーゼ阻害率(%)	IC ₅₀ (ml-飲料/ml)
G-P液	55.8	0.18
乳酸飲料 A	32.6	0.31
乳酸飲料 B	45.1	0.22
ウーロン茶(A社)	16.7	0.60
日本茶(A社)	10.0	1.00
アップルジュース果汁20%	15.8	0.63
オレンジジュース果汁30%	32.9	0.30
スポーツドリンク(B社)	0	—
乳飲料(C社)	8.0	1.25
野菜ジュース(D社)	1.7	5.77
柴朴湯(水抽出液)*	36.1	0.28
クロモフェロモン点眼液**	98.6	0.01

*漢方薬の抗アレルギー剤 **アレルギー性結膜炎治療剤

3.4. 抗変異原性

Dollら¹⁹⁾はガンの約80%は食物を含む環境因子に原因すると指摘している。が一方、発ガンを抑制する食品もあり、緑黄色野菜、淡色野菜、高繊維食等があげられている²⁰⁾、その発ガン抑制作用を検討する手段として抗変異原性試験が行われている。

ビーフステーキや焼き魚の焦げ部分は変異原物質と知られているが、その変異原物質はアミノ酸の加熱分解物で、たとえばトリプトファンの加熱分解物にTrp-p-1、Trp-p-2がある。Trp-p-2に対する抗変異原性試験の結果を表4に示す。

表4 各種飲料の抗変異原性

飲料	抗変異原性率 (%)
G-P液	87.7
乳酸飲料 A	87.8
乳酸飲料 B	83.6
ウーロン茶 (A社)	87.5
日本茶 (A社)	68.4
アップルジュース果汁20%	10.8
オレンジジュース果汁30%	51.9
スポーツドリンク (B社)	0
乳飲料 (C社)	0
野菜ジュース (D社)	75.6

乳酸飲料は、Aが87.8%、Bが83.6%と強い抗変異原性を持つことが認められた。他の飲料では、ウーロン茶、日本茶、野菜ジュースが高い抗変異原率を示した。賀田ら²¹⁾は緑茶の葉の中に強い抗変異原物質があることを報告している。また、野菜の抗変異原性については多くの研究者^{22)~27)}の報告がある。

以上、白糠を糖化した液の乳酸菌と酵母とによる発酵飲料は、抗酸化性、抗アレルギー性、血圧上昇抑制、抗変異原性等の機能性を有することがIn-Vitroの試験で認められた。

これらの機能性は白糠糖化液のG-P液においても認められたことから、有効成分は白糠に由来するものと考えられるが、今後詳細に検討したい。

4. まとめ

白糠を原料とし、乳酸菌と酵母による発酵から造った飲料の機能性を調べた。

- 1) ポリフェノール含量は対照に用いた他の飲料より多かった。
- 2) NBT法による活性酸素消去活性が認められた。
- 3) β -カロチンの退色の防止活性を指標とする試験法で抗酸化剤、BHAの抗酸化性との比較で、BHA (mg/100ml) より強い抗酸化性を示した。

- 4) 抗アレルギー性試験では、ヒアルニダーゼ阻害試験で抗アレルギーの漢方薬、柴朴湯 (250mg/ml) と同等の阻害率を示した。
- 5) 血圧上昇抑制では、アンギオテンシン変換酵素阻害試験で高い阻害活性を有することが認められた。
- 6) 抗変異原性試験で強い抗変異原活性を示した。
- 7) 以上の機能性を示す成分は、原料の白糠の糖化液に由来することが推定された。

5. 参考文献

- 1) 菅野信男, 上東治彦, 森山洋憲, 山崎祐三, 久武睦夫: 高知県工業技術センター研究報告 30, 87 (1999)
- 2) 津志田藤治郎・鈴木雅博・黒木征吉: 日食工誌, 41, 611 (1994)
- 3) FOLIN, O. and CIOCALTEAU, V.: *J. Biol. Chem.*, 73, 627 (1927)
- 4) DE ROSA, G. DUNCAN, D. S., KEEN, C. L., and HURLY, L.: *Biophys. Acta*, 556, 32 (1979)
- 5) CUSHMAN, D. W. and CHEUG, H. S.: *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637 (1971)
- 6) 掛川寿夫, 松本 仁, 佐藤利夫: 炎症, 4, 437 (1984)
- 7) AMES, B. N., DURSTON, W. E., YAMASAKI, E. and LEE, F. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 70, 2281 (1973)
- 8) AMES, B. N., McCANN, J. and YAMASAKI, E.: *Mutation Res.*, 31, 347 (1975)
- 9) OCAMOTO, A., HANAGATA, H., MATUMOTO, E., KAWAMURA, Y., KOIZUMI, Y. and YANAGIZA, F.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59, 1147 (1995)
- 10) 斉藤義幸, 中村圭子, 川戸章嗣, 今安 聡: 農化, 66, 1081 (1992)
- 11) 原 征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫: 農化, 61, 803 (1987)
- 12) YOKOYAMA, K., CHIBA, H. and YOSIZAWA, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 56, 1223 (1992)
- 13) 松本 清, 荻久保温子, 吉野貴唯, 松井利郎, 箆島 豊: 日食工誌, 41, 589 (1994)
- 14) 受田浩之, 松田秀喜, 黒田浩之, 箆島克裕, 松藤寛, 箆島 豊: 農化, 65, 1223 (1991)
- 15) FUJITA, H., SASAKI, R. and YOSIKAWA, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59, 2344 (1995)
- 16) FUJII, M., MATSUMURA, N., MITO, K., SHIMIZU, T.,

- KUWAHARA, M., SUGANO, S. and KARAKI, H. : *Biosci. Biotec. Biochem.*, **57**, 2186 (1993)
- 17) 原 征彦, 外岡史子 : 日栄養・食糧学誌, **43**, 345 (1990)
- 18) 田中善晴, 日比野英彦, 仁科淳良, 細越政敏, 中野裕之, 菅原達也 : 食品産業技術研究報告, **25**, 115 (1999)
- 19) R. Doll and R. Peto : *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191 (1981)
- 20) 厚生省公衆衛生局栄養課編 : 循環器・がん・糖尿病の予防と食生活—疾病予防と栄養に関する検討委員会報告, P.19-28, P.115-156 (1983)
- 21) T. Kada, K. Kaneko, S. Matsuzaki, T. Matsuzaki, and Y. Hara : *Mutation Res.*, **150**, 127 (1985)
- 22) T. Kada, K. Morita, and T. Inoue : *Mutation Res.*, **53**, 351 (1978)
- 23) K. Morita, M. Hara, and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1235 (1978)
- 24) T. Inoue, M. Morita and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 345 (1981)
- 25) K. Morita, H. Yamada, S. Iwamoto, H. Sotomura, and A. Suzuki : *J. Food Safety*, **4**, 139 (1982)
- 26) K. Morita, T. Kada and M. Namiki : *Mutation Res.*, **129**, 25 (1984)
- 27) K. Morita, Y. NishiYama and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 925 (1985)

技術 第 3 部

効率的生産技術による高品質鋳造品の開発（第1報）

眞 鍋 豊 士

The development of high quality casting products by efficient production technology (Part 1)

Toyoshi Manabe

高知県鋳造業界の熟練技術者不足の解消、不良率低減などを目標に、鋳造シミュレーションによる鋳造支援システム開発を行った。また、実製品の凝固収縮による鋳造欠陥位置、発生状況等を調査し、鋳造シミュレーションとの整合性を図りながら、鋳造支援システムの汎用性の強化も図った。

1. はじめに

高知県の鋳造業界の多くは、砂型を使用することが多く、造型の際の鋳造方案や押し湯位置などは、熟練技術者の経験に頼ってきた。しかしながら、最近では熟練技術者の高齢化や不足に伴い、鋳造欠陥などの不良発生が問題となってきている。そこで熟練技術者に代わり、経験の浅い技術者でも、簡易に鋳造方案や押し湯位置を決定し、鋳造欠陥などの不良率低減することのできる鋳造シミュレーションによる鋳造支援システムを開発する必要があり、そのシステム開発を行った。

2. 研究内容

開発目標としては、

- ・鋳造方案設計の改善（簡略化）
- ・熟練技術、ノウハウの共有化（データベース化）
- ・工程時間及び工数の削減（試作回数の削減）

- ・不良率の低減及び高付加価値化があった。

そこで以下の3つの手順により研究を行った。

- ①鋳造製品等の凝固収縮による鋳造欠陥位置、発生状況等を調査、解析し、鋳造シミュレーションとの整合性を図る。
- ②鋳造シミュレーションを利用した鋳造支援システムへの鋳物生産におけるノウハウ（鋳造方案、鋳造条件等）の取り込み（データベース化）及びシミュレーション技術の最適化を図る。
- ③開発した鋳造支援システムを用い、実生産品への適用を検証する。

3. 研究結果

3.1. 全体構成

鋳造支援システムの全体構成を図1に示す。

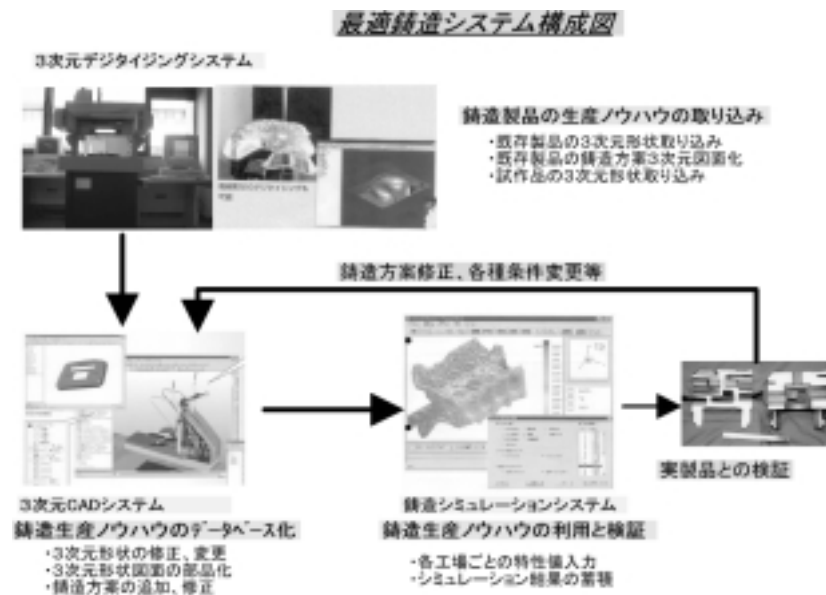


図1 鋳造支援システム全体構成図

3.2.仕様

鑄造支援システムのデータベース部構成を図2に示す。

鑄造支援システム構成図

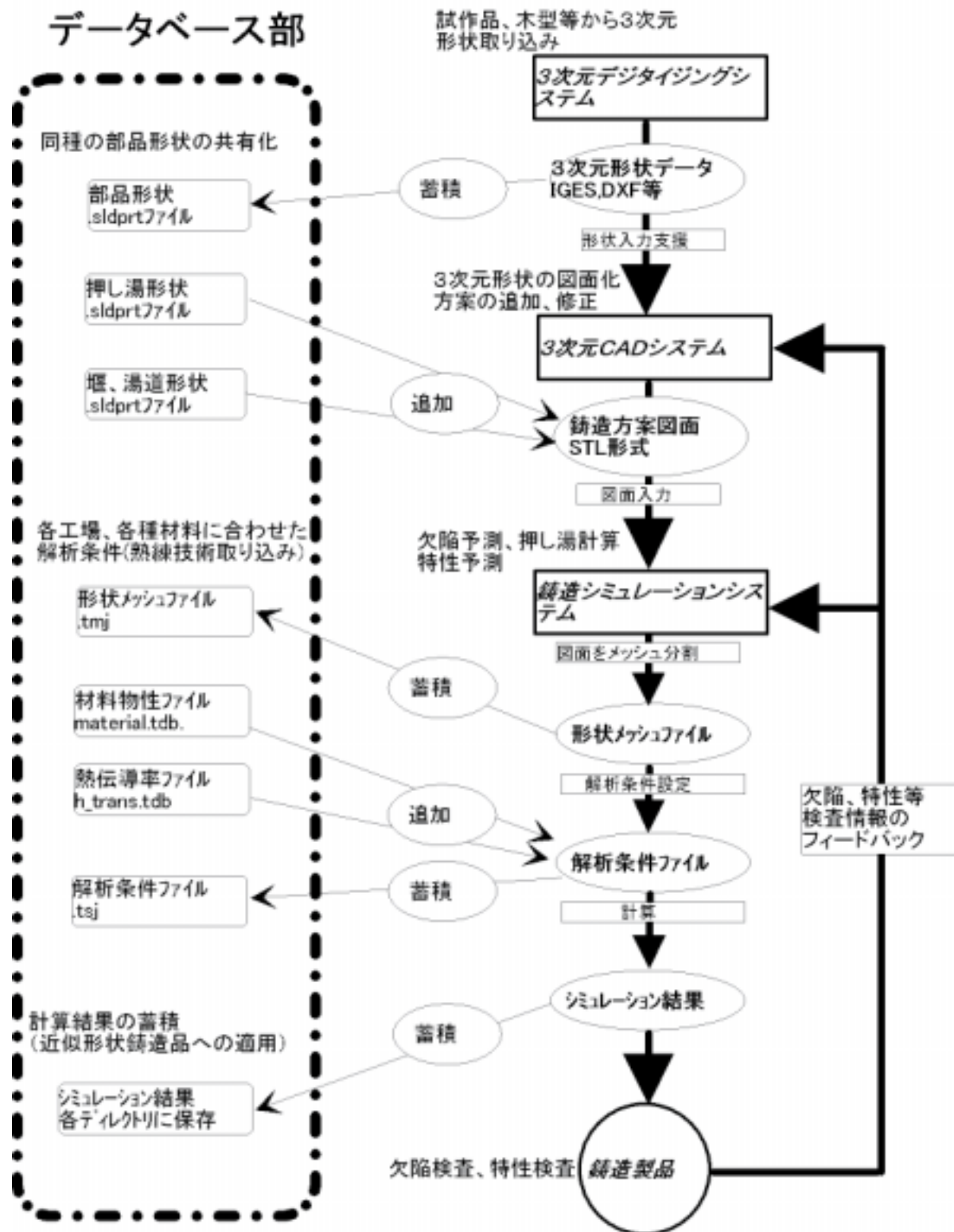


図2 鑄造支援システムデータベース部構成

3.3. 機能

以下の機能を有している。

(A) 3次元形状データの共有が可能

- ・同種の鋳造品形状（大きさの異なる同種類の部品など）の共有
- ・押し湯、湯道、堰形状の共有（共通使用部材の共有化）など

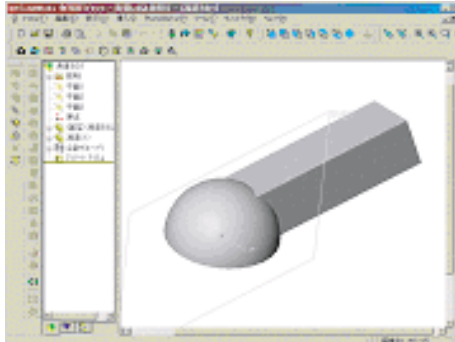


図3 共有形状ファイル例（湯道）

(B) 各工場、使用原料、鋳造品種などにあわせた解析条件の設定が可能

解析条件ファイルの例を以下に示す。

```
*TITLE          (タイトル)
kawatake flange fc
VO.0
*GRAV. DIR.     (重力方向)
-Z
*MATERIAL       (材料特性)
4
MAT 1 2
    2SAND      0 40.00
    1500.00 0.8370 0.84
MAT 1 1
    1FCD400    0
    6700.00 1.0470 33.50
    0 230.20 1145.00 1155.00 1534.00 0.2200
0.7500 0.0250 3.5000 7200.00
    0.0100 0.5000
    2.800 2.500 0.0000 0.0000 1.600 0.5000
0.0068 0.00225
MAT 1 A
    -1INJE     1300. 00
MAT 1
    99AIR      30. 00
*HEAT TRAMS.   (熱伝達係数)
1
```

```
HTRN 1 21
0 TOGATA
837.21
*FLOW          (流れ計算条件)
1 1.000 0.950 0 0
A 11. 000 0. 000
I 10.00 1000 0.00 0.0000 0.0000
1.000000e-03 1.000000e+00 1.700000e+00
1.000000e+00 1.000000e-05
3.000000e-01 1.000000e-04 1.000000e-04
*SOLID         (凝固計算条件)
0.0 0 0.000 0
*POST          (計算結果出力指定)
10000
1
0.00 100.00 10.00 0
1010000000000000
0
*RST. OUTPUT   (リスタートファイル指定)
1 i
0.2 1.0 0.2 0
*END
```

(C) シミュレーション計算結果の蓄積

- ・データの蓄積により使用原料などの条件変更があった場合の対応が可能になる。

3.4. 作動

鋳造支援システムの要となる鋳造シミュレーションシステムを始め、データベース部、3次元CADシステム部、3次元デジタイジングシステム部などすべてのシステムが、マイクロソフト社のWindows 98、NT 4.0上で動作するシステムで成り立っており、高い互換性を保っている。

3.5. 汎用性の強化

・鋳造製品等の凝固収縮による鋳造欠陥位置、発生状況等を調査し、鋳造シミュレーションとの整合性を図った。その結果を材料特性、熱伝導率などの各種パラメータの調整へと反映した。

- ・試作品や既存生産品の形状データの取り込みや押し湯、堰などの共通部品形状の取り込みを共有化した。

・開発した鑄造支援システムを用い、実生産品への適用を検証した。例えば、半導体研磨機器の定盤に使用される部品は、形状は円盤状で単純であるにもかかわらず、従来の生産では鑄造欠陥の発生が多く、不良率の高い部品であったが、今回の鑄造支援システムにより、鑄造方案に最適な冷し金配置を行うことにより不良の発生を解消する事ができた。

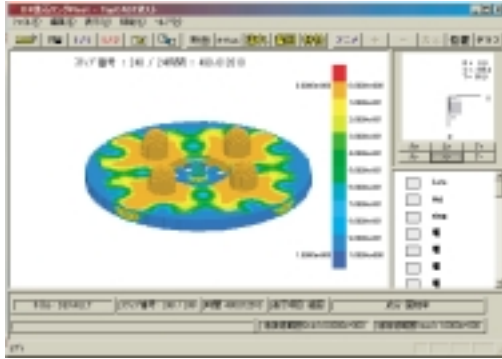


図4 円盤状鑄物製品鑄造シミュレーション解析結果例

4. まとめ

今回の鑄造支援システムの開発において、データの蓄積の手順等は確立でき、一部試作品についても良好な結果を得ることができたが、まだまだ蓄積データが不足している。今後も開発参加企業の協力を得ながら、更なるデータの蓄積を行う必要があると考えられる。

無線 LAN による情報コミュニティシステムの設計・構築

武市 統 眞鍋豊士 仲村 譲 今西孝也 川北浩久 鶴田 望 土方啓志郎 宮崎玄教*

*Construction for the Community Information by using three types of
Wireless LAN System*

*Osamu TAKECHI Toyoshi MANABE Yuzuru NAKAMURA Koya IMANISHI
Hirohisa KAWAKITA Nozomu TSURUTA Keishiro HIJIKATA
Tsunenori MIYAZAKI*

無線ネットワークの大規模化は、ブロードキャスト抑制などの必要があり、関連する問題点を克服するため、中距離伝送用無線 LAN 機器、長距離伝送用機器及び経路制御機能を持つ機器、3 機種を用いて広域にわたる地域性の高い拡張可能型ネットワークの設計及び基本モデルの構築と複数の情報コミュニティの形成を行った。そのネットワークの運用実験や多様化を図るための海上実験を実施した結果は、設計仕様を上回る性能であり、また海上での通信品質の予測方法を確立した。

1. まえがき

近年、無線 LAN 機器の実用的利用が可能となった背景の下で、地域各所において広域をカバーするネットワーク構築の試みが進められている¹⁾²⁾。これらは同一機種だけを使用したネットワーク構成や単一ネットワーク構成である。同一機種だけでは地理的条件により、ネットワークの構築が制限されるため、その条件に応じた機器の利用が必要である。また単一ネットワーク構成ではネットワーク規模の拡大に応じてブロードキャストの発生頻度が増し、ネットワークの能力が減少するため、ネットワークの分割によってブロードキャストの抑制を行う必要がある。

そのため筆者らは、中距離 (10km 程度) 伝送用無線 LAN 機器、長距離 (15km 程度) 伝送用機器、ネットワーク分割を行う経路制御機能を持つ機器、この 3 機種を用いて広域にわたる拡張可能型ネットワークの設計および構築を行った。そして、そのネットワークの通信品質に関連する実運用実験や無線ネットワークの多様化を図るための海上実験を実施して、本システムが設計仕様を上回る性能であり、海上での通信品質の予測方法が確立したことなど優れた結果を得た。そ

の設計手法、高い実用性ならびに海上通信品質の予測方法について示す。

2. 無線 LAN システムの設計・構築

2.1. システムの検討

無線ネットワークは、公設機関や会社などの組織に無線 LAN 機器を設置して構築する。各組織の取り扱う情報は異なるものの共有部分があり、情報の共有を図る共有体として情報コミュニティを考え、本稿では COM1 ~ COM4 の 4 つを設定した。各コミュニティを構成する組織 (ノード) は以下である。

- ・COM1 N1、N2、N5
- ・COM2 N2、N5、N6
- ・COM3 N3、N4、N5、N7
- ・COM4 N4、N5、N6

各コミュニティに属する組織が必要とする情報量は、①人員数、②利用時間、③扱う情報量の種類 (取り扱う情報量の大きさを検討して、大: 3 (動画、高精細画像等) 中: 2 (画像、文字等) 小: 1 (文字等) で表現する) ④1人が1日に取り扱う情報量、⑤組織総トラフィック、の5項目からネットワークの利用時間帯において、扱う情報の大きさに従い増大する情報量変化分を加味して、定常的に流れる情報量 (組織定常トラフィック) を計算することで得た。各項目

技術第3部

*株式会社タカチ測建

との関係は以下である。

$$\text{⑤組織総トラフィック} = \text{①} \times \text{③} \times \text{④}$$

$$\text{組織定常トラフィック} = \text{⑤} \div \text{②}$$

各組織の①～④の調査結果から、組織定常トラフィックを計算した(表1)。表1で得られた組織定常トラフィックを各組織毎に集計して、各組織が入出力する1時間当たりの総合情報量であるトラフィックを得た(図1)。但し、このトラフィックは蓄積型データ通信に関する能力を示しており、ネットワークの実効的能力を得るためには、マルチメディア通信など実時間性が要求される通信について考慮する必要がある。そこで適当な帯域を確保することとして、本稿での要求する通信速度はトラフィックを約12倍(1時間単位から5分間単位)した速度とした。

地理的条件として、表1に大まかな組織間距離を示し、次に述べる。

2.2. ネットワーク形態と地理的条件の検討

無線LAN機器を使用してシステム構築を行う上での制約は、機器間の通信可能距離は公称距離(数km)以内、機器間は直視が可能、であり、その制約と現地調査からノード間やノード-中継ポイント間の接続関係について検討した。その内容は以下である。

- ・N1から中継ポイントR1、R2、R3を経由してN2との通信を行う。
- ・N2はN5と直接通信を行う。
- ・N5はN3、N4と直接通信を行う。
- ・N6は中継ポイントR4を経由してN5と通信を行う。

・N7は中継ポイントR6、R5、R4を経由してN5と通信を行う。

検討したノードN1～N7及び中継ポイントR1～R6の接続関係を図2に示す。

2.3. 使用機器の検討

無線LAN機器の実効的通信速度は使用環境により公称値から減少する値となり、通信可能距離は公称値

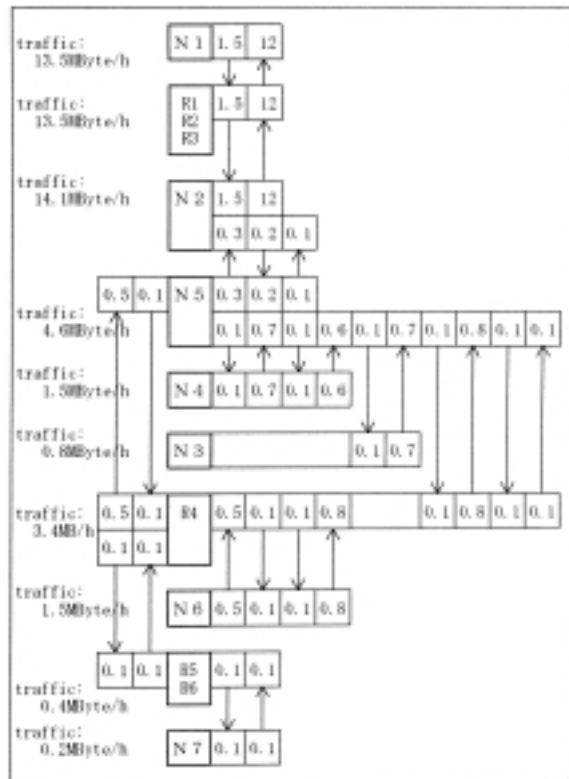


図1 各ノードの情報量
Fig. 1 Traffic of each node

表1 システム構成に関する仕様
Table 1 System requirement on construction

COM 1						
	N1	R1, R2, R3	N2	N5	備 考	
関係人員数	5		40	1	人	
利用時間	10		10	24	時間	
情報の種類	3		3	3	大:3, 中:2, 小:1	
情報量/人	1		1	2	MByte/Day	
組織総トラフィック	15		120	6	MByte/Day	
組織定常トラフィック	1.5		12	0.3	MByte/h	
組織間距離	15~17km			5 km		
COM 2						
	N6	R4	N5	N2		
関係人員数	4		1	2		
利用時間	8		24	1		
情報の種類	2		3	1		
情報量/人	0.5		1	0.1		
組織総トラフィック	4		3	0.2		
組織定常トラフィック	0.5		0.1	0.2		
組織間距離	3~4 km		2~3 km	5 km		
COM 3						
	N4	N5	N3	R4	R5, R6	N7
関係人員数	1	1	1			1
利用時間	3	24	3			1
情報の種類	2	3	2			1
情報量/人	1	1	1			0.1
組織総トラフィック	2	3	2			0.1
組織定常トラフィック	0.7	0.1	0.7			0.1
組織間距離	0.1km		0.5km		5~6 km	7~9 km
組織間距離	2~3 km					
COM 4						
	N6	R4	N5	N4		
関係人員数	2		1	1		
利用時間	8		24	5		
情報の種類	3		3	3		
情報量/人	1		1	1		
組織総トラフィック	6		3	3		
組織定常トラフィック	0.8		0.1	0.6		
組織間距離	3~4 km		2~3 km	0.1km		

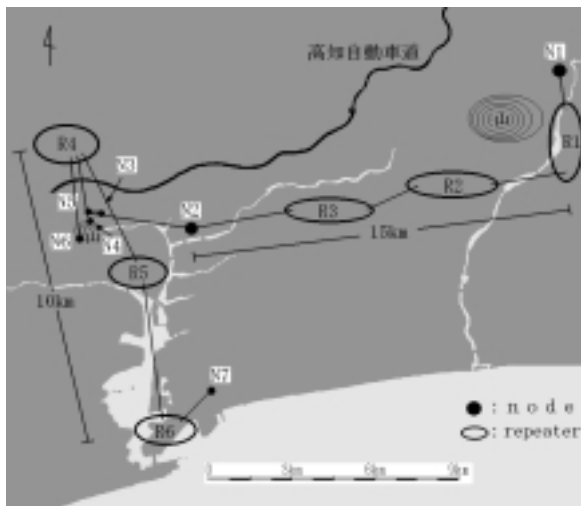


図2 検討段階の各ノード・中継の位置
Fig. 2 Location of nodes and repeaters under investigation

から増減する値となる²⁾。また、ネットワークの実効的な通信速度は中継ポイント設置により速度低下²⁾を招く。そのため、使用環境の改善や必要最小限の中継ポイント設置数に留めることが必要である。使用環境が良好な状態であれば、機器の通信可能距離の延長が見込め、中継ポイント数の削減につながり、ネットワークの通信速度低下を最低限に抑えられるため、本稿で使用した3機種の伝送距離と実効的通信速度を評価する実験を行った。その結果を次に述べる。

・A社タイプA

N1～N2間においてパラボラアンテナ使用で通信可能な最長距離は15km程度であった。通信速度は2.8Mbps程度であった。

・B社タイプB

R4～R6間において八木・宇田アンテナ使用で通信可能な最長距離は13km程度であった。通信速度は0.8Mbps程度であった。

・C社タイプC

N2～N5間などにおいてコリニアアンテナ、パッチアンテナ共に通信可能な最長距離は5km程度であった。通信速度は0.3Mbps程度であった。

タイプA、Bは、現地において公称距離以上の通信が行えた。実験結果をふまえてより効果的な通信を行うために、図2に示す中継ポイントの再検討を行った結果、タイプAをR1、N2に使用することでR2、R3を廃止、タイプBをR4、R6に使用することで

R5を廃止した。

以上、各ノードに使用する機器は以下のように決定した。その位置関係は図3に示す。

- ・N2、N3、N4、N5、N6、N7

大規模ネットワーク構築に不可欠な、局部的ブロードキャストなど不必要な情報の抑制や、通信経路が障害を受け不通となった場合の迂回経路生成のために経路制御機能を持つタイプCを使用する。

- ・R1、N1、N2

R1～N2間の距離の条件からタイプAに限定され、R1～N2間の通信速度を活かすためにR1～N2間もタイプAを使用する。

- ・R4、R6

R4～R6間の距離の条件から、タイプA、Bが利用可能であるがコスト面から低価格のタイプBを使用する。また、ノード(N5、N7等)との通信のためタイプCを併用する。

2.1で得た要求する通信速度は各ノードにおいて妥当なものか考える。使用する無線LAN機器の実効

表2 トラフィックの妥当性

	機器の実効通信速度	要求する通信速度 (MByte=1000kByte)
N1	2.8Mbps	13.5MByte/5min (360kbps)
N2	2.8Mbps, 0.3Mbps	14.1MByte/5min (376kbps)
N3	0.3Mbps	0.8MByte/5min (21kbps)
N4	0.3Mbps	1.5MByte/5min (40kbps)
N5	0.3Mbps	4.6MByte/5min (123kbps)
N6	0.3Mbps	1.5MByte/5min (40kbps)
N7	0.3Mbps	0.2MByte/5min (7kbps)
R1	2.8Mbps, 2.8Mbps	13.5MByte/5min (360kbps)
R4	0.3Mbps, 0.8Mbps	3.4MByte/5min (91kbps)
R6	0.8Mbps, 0.3Mbps	0.4MByte/5min (11kbps)

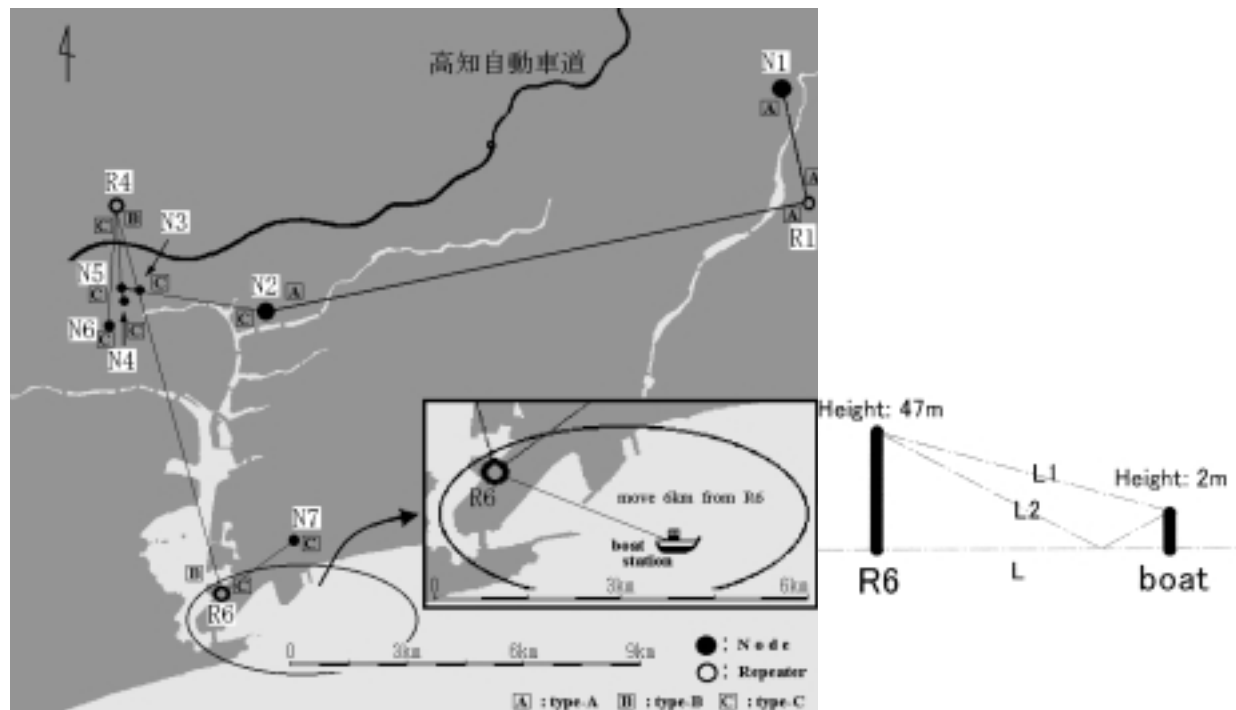


図3 システムマップと海上実験
Fig. 3 System map and overseas Experiment

通信速度と要求する通信速度との比較した結果を表 2 に示す。例えば、N1 の要求する通信速度は360kbps、使用機器の実効的な通信速度は2.8Mbps であり、要求する通信速度は全ノードで十分達成できる妥当な値であった。

2.4. 効果的な設計・構築

ネットワークの論理的構成は図 4 に示す。図 4 の 7 つのノードは基本ネットワークであり、太枠で分割した左・右・下の 3 区間 (AirNet 1、2、3) は、その基本ネットワークを無線で結んだ上位ネットワークである。これらのネットワークから 4 つのコミュニティを形成するために必要とする経路 (例えば COM 3 形成に必要な、N7 から R6、R4、N5 を経由して N3 への経路など) の設定を、表 1、図 4 に基づき N2 ~ N7、R4、R6 に設置したタイプ C 及び N1、N2 に設置したルータに対して行った。経路設定には、ノードの増加に伴う設定作業量の増加や迂回経路設定の難度から動的設定が実用的である。しかし通信障害の原因究明を簡素化するなどのために本稿では静的な設定を行った。

アンテナの設置は、雑音や干渉に関して十分留意して行った。特に R4 は、タイプ B、C の異機種を隣接設置しなければならない状況であったため、2 つのアンテナの間隔に注意して設置した。

3. 通信品質の測定

TCP/IP では 1 つの経路上に幾つもの通信が多重化されて情報が流れることや無線経路の非対称性¹⁾のために、正確な通信品質の測定が困難である³⁾。そこでネットワークの通信品質状態を表すひとつの指標として ping コマンドや ftp コマンドから得られる値を用いた。ping のパケットサイズは通信品質測定 of 感度を高めるために、一度に送受信される最大量の 1500

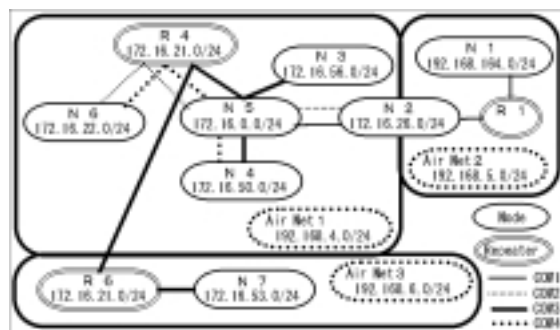


図 4 システムダイアグラム
Fig. 4 System diagram

バイトを用いた。

3.1. 異機種間の干渉

本稿では 3 機種の活用によりシステム構築を行っているため、異機種の隣接設置を行った R4 では異機種間の干渉と思われる通信品質の悪化が見られる。そこで、その影響を調べる実験を N5 と R4 間で行った。指標としては R4 のタイプ C から N5 のタイプ C への ping コマンドの応答の比率である。

- ・ R4 のタイプ B のアンテナとタイプ C のアンテナの間隔 1 m
- ・ R4 のタイプ B のアンテナとタイプ C のアンテナの間隔 2 m

2 つのアンテナの間隔をかえて、タイプ B の電源を OFF から ON にして ping 応答の変化を調べた。その結果、アンテナの間隔 1 m の条件ではタイプ B が ON 状態になると 15% 程のタイムアウトを起し、間隔 2 m では 10% 程のタイムアウトであった。

このことから、異機種間の干渉は通信品質を悪化させる要因の 1 つであることが分かった。

3.2. 通信品質

ネットワークの通信品質に対する実験は、長期通信品質、通信速度ならびに帯域保証・応答性に関して行った。

長期通信品質は、N5 から N4 に対して 4 分毎に ping を 10 回実行して、10 回のうち応答のあったパケットの平均応答時間とその回数及び回数の 2 時間平均値をグラフ化した (図 5)。図 5 は 15 日間を通して測定しており、降雨など気象条件によって通信品質が左右されることのない²⁾結果を得た。

通信速度を示す指標として ftp を用いた実験を行った。その結果、N2 から N1 は 200k バイト/s 程、N2 から N5 は 20~30k バイト/s であった。要求する通信速度は、N1 は 360kbps、N5 は 123kbps であり、各々の達成率は 400% 以上、130% 以上である。現状のネットワーク仕様から非常に快適な状態といえる。

表 3 通信品質 (煩雑通信)
Table 3 Quality (rushtraffic)

受信	発信	送出 パケット	受信パケット (kByte/s)	パケット ロス	平均応答 時間
N2	N1	6729	5581 (5.8)	17%	113.9ms
N2	N5	7797	7579 (7.9)	2%	7.5ms
N3	N5	7840	7666 (8.0)	2%	7.4ms
N4	N5	8169	8015 (8.3)	1%	7.5ms
N6	N5	4880	3007 (3.1)	38%	13.1ms
N7	N5	3434	582 (0.6)	83%	237.5ms

帯域保証や応答性は、f オプションを伴った ping の実験を行った。f オプションは64バイトの packets を連続して送出する⁴⁾ことから、ネットワークの応答性について負荷の高い調査が可能である。N1、N2、N5 に設置した20万 packets 以上の送出能力を持つコンピュータから N1～N7 に対して1分間 ping を打つ実験を行った。その結果は、表3に示す0.6バイト/s～8.3kバイト/s程度の値であり、激しく packets の行き交う状況では、ftp で得られた値を下回ることが分かった。通常の使用では、この状況が起こることは希であり問題とはならないが、この方法によるシステムの混乱に対するセキュリティ対策は必要である。

3.3. 海上実験

無線ネットワークの応用範囲拡大のため、海上の船舶局と R6 との間(図3)において、通信距離と送信点の合成電界強度⁵⁾との関係が、通信品質にどのような関連を持つか調べる実験を行った。

天候は快晴であり海面はうねりのない状態であった。使用機器はタイプC、偏波面は垂直である。実験は、ping (packet size 64 bytes) の船舶局から R6 に対する連続(1秒間隔)実行と、30秒毎の距離計測を、船舶を約5.6km沖から海岸に向け定速(約17km/h)で移動させながら行った。また、船の揺れの影響を少なくするためアンテナの向きは R6 方向に一定に保つようにした。

ping の応答回数を平滑化処理して、その比率と距離の関係ならびに図3に示す R6、船舶局のアンテナの高さと距離 L によって合成される電界強度のシミュレーション結果をグラフ化した(図6)。計算に用いた反射効率は80%である。これは図6の点Pを越える距離で通信状況が回復することからシミュレーションカーブには節の存在が考えられ、計算の結果、反射効率60%以下では節が生じないため、本実験での反射効率は70～90%程度であったと仮定し中間の80%を用いた。図6の ping 応答比率の実測値とシミュレーションカーブとの相関係数は0.61であり、相関が認められた。

図6の点P付近で通信品質が悪化する箇所は、直接波と反射波の合成によって予測でき、通信可能な最長距離は、ping 応答比率が70%を下回る点Pを通信可能限界と考え、その電界値-46dBから、8.5km付近まで通信可能であると予測できる。

通信を行う上で通信困難域を知ることは重要なこと

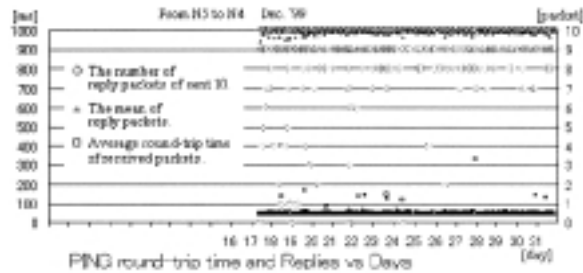


図5 通信品質(長期)

Fig. 5 communication quality (long period)

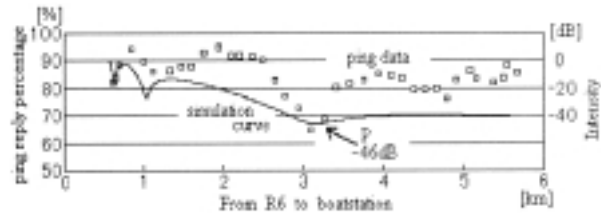


図6 海上の通信品質

Fig. 6 communication quality over sea

であり、本実験において海面にうねりのない状態の通信品質の予測は、電界強度の計算で行えることが確認できた。

4. まとめ

地理的に広域でかつ大規模ネットワークの構築につながるモデルとして、7つの基本ネットワーク及び3つの無線による上位ネットワークを、3機種の特徴を活かした使用方法によって、最適化されたネットワークの構築ができた。また4つのコミュニティはそれらの経路を制御することで形成できた。

このモデルにおいて、通信品質は設計仕様に対して十分なものであり、またネットワーク拡大は情報の経路制御機能により容易に行えるなどの結果を得た。

ネットワークの拡大の1つとして考えられる海上での利用を想定した海上実験において、海面にうねりのない状態の通信品質は、電界強度の計算によって予測が可能であることが確認できた。

以上、システムの構築、十分な通信品質、優れた拡張性及び海上での通信品質予測について述べた。今後、このシステムを使った応用は、中山間地域、海上利用、通信が難しい場所において急速に進むと考えている。

文献

- 1) 自治体ネットワーク用小規模無線システムに関する調査研究会、報告書、四国電気通信監理局、Mar. 1999.

- 2) 今井一雅、澤本一哲、矢野漣、菊地時夫、菊池豊、
“高速無線 LAN システムによる地域情報化ネットワークの構築と運用”、進学技報、vol. 99,
No. 592, pp. 39-44, Feb. 2000.
- 3) Masaki Fukushima and Shigeki Goto, Analysis of
TCP Flags in Congested Network, Internet Work-
shop 99 (IWS'99), IEEE Press (to appear)
1999.
- 4) Linux on line manual, ping. 8, 1998.
- 5) 守山喜代松、改訂高周波計測、近代科学社、Jul.
1978.

魚の鮮度変化に関する研究 (第2報)

— 簡易鮮度測定法の検討 —

刈谷 学 荻田淑彦*

Study on Fish Freshness Changes (Part 2)

Simplified Freshness Testing Method

*Manabu KARIYA Yoshihiko OGITA**

流通事情の改善にともない、鮮度の良い魚を消費者が求めるようになり、時間単位の鮮度管理が必要となっている。本稿では魚体を物理に簡便な方法で、非破壊測定し鮮度指標を得る方法について検討した。鮮度管理が必要な時間をATP消長パターンの2倍の24時間程度とし、硬直係数、衝撃値、触覚センサ等の利用を検討した。触覚センサと往復の移動機構を用いて、ヒステリシス特性により評価を行う場合には、経時変化を大きな変化量として計測可能であった。

今後、鮮魚の鮮度管理を今回のような物理量で評価するというコンセンサスが得られれば、簡便に数値的鮮度評価が行える可能性がある。

1. はじめに

流通事情が改善され、きわめて鮮度の良い魚を消費者が求めるようになり、商品としての魚の差別化、高知県の生鮮魚の高付加価値化を考慮すれば時間単位の鮮度管理方法を確立する必要がある。

現在、時間単位の化学的鮮度指標として用いられている筋肉ATP含量の分析には高価な分析機器と1サンプルあたり1時間以上の時間が必要である。このATPの消長パターンと魚肉破断強度の変化パターンに相関があることを昨年度確認した¹⁾。しかし、ATPパターンは約12時間程度しか変化パターンを示さず、流通時間を考えると鮮度基準としては短すぎ、また、相関のある破断強度測定は、魚の切り身が必要であり、魚体の損傷が大きく流通現場での適用が困難と考える。

ここでは、魚体の損傷量を小さくして、魚肉のかたさ等の物理的計測量より、簡便な鮮度判定の可能性について検討した。

2. 実験方法

ゴマサバ(清水サバ)、養殖マダイ、養殖シマアジ

の3魚種を供試した。3魚種とも水槽で1日蓄養されたものを、速やかに取り出し、延髄刺殺により即殺した。その後、氷水に浸漬し魚体中心温度を5℃まで急冷し、魚体温を保ちながら、硬直係数、魚体への衝撃と触覚センサにより魚体の状態を経時的に測定した。

硬直係数は尾藤ら²⁾の方法により行い、また同係数は、船上や流通面での鮮度保持を考える上で資料になると報告されている。

衝撃値は昨年度、死後に魚肉の破断強度が経時的に変化することを確認したため、魚肉を切り取らずにラウンドのままでも、物理的な計測量に変化を生じると考え測定した。用いた装置の外観を写真1に示す。センサ部分はステンレス製(SUS304)で、約80グラムの重量があり、先端がφ5mmの円柱となっている。その中に、荷重計をサンドイッチ構造で組込み、魚体衝突時の荷重ピークを衝撃値とした。測定場所は、エラ蓋後部の側線3~5cm付近である。

触覚センサは尾股ら³⁾によって考案されたものであり、圧電素子を一定周波数で振動させ、対象物に接触させると、対象物のもつ固有振動数によりセンサの共振周波数が変化するという原理によっている。その外観を写真2に示す。対象物が軟らかければ、周波数は低い方に变化し、硬ければ高い方に变化するという特性を持っている。実験結果は触覚センサによる魚体の

技術第3部

*高知県水産試験場

硬さ変化を周波数変化で表している。マダイ、シマアジの実験では、触覚センサに定速送り機構を有しているものを使用し、深さ 3 mm まで往復運動させ測定した。



写真1 衝撃センサ外観



写真2 触覚センサ外観

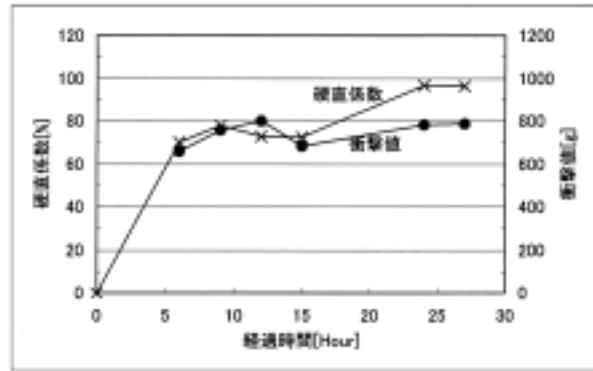


図1 硬直係数対衝撃値経時変化 (ゴマサバ)

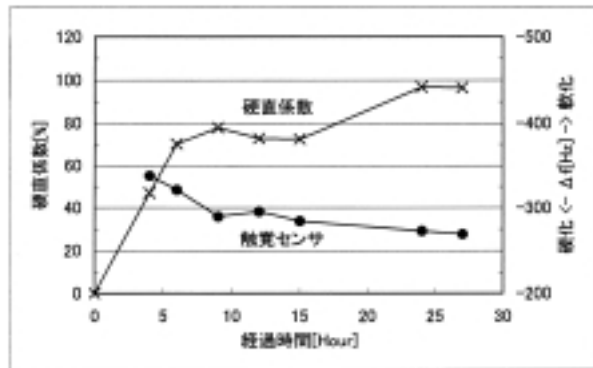


図2 硬直係数対触覚センサ経時変化 (ゴマサバ)

3. 実験結果

3.1. ゴマサバ (清水サバ)

12月に土佐清水沖で釣りにより漁獲されたものを冷海水槽に1日蓄養し、即殺して実験を行った。供試魚は4尾で、平均体長は36.0cmであった。硬直係数と衝撃値の経時変化を図1に、硬直係数と触覚センサの経時変化を図2に示す。硬直係数と衝撃値は同様な変化をしており、触覚センサも硬直係数の増加と共に硬化傾向を示している。

3.2. マダイ

12月に浦ノ内で養殖された、マダイをゴマサバと同様に水槽で1日蓄養後、即殺し実験を行った。供試魚

は3尾で、平均体長は40.4cmであった。硬直係数と衝撃値の経時変化を図3に示す。硬直係数、衝撃値ともに、経時変化を示しているものの、衝撃値は解硬後も増加傾向を示した。また、触覚センサに定速往復機構をつけ、触覚センサを速度一定で、深さ3mmまで往復させた結果を図4、5に示す。計測値は押込み時と引込み時は異なった値となっており、ヒステリシス特性を示している。図4では、触覚センサ値は荷重値や押込み位置により異なった値となっており、触覚センサのみの値を用いる場合には、荷重、押込み位置のどちらかを固定する必要がある。また、触覚センサは直接、接触した物の硬さを計測しており、そのヒステリシス特性は粘弾性などのテクスチャ変化を示していると考えられる。

図5に示すヒステリシス面積は、深さ3mmの条件での魚肉の粘性による損失エネルギー⁴⁾に相当すると考えられる。図5に示す面積の経時変化を各サンプルに対して求めた結果を図6に示す。サンプルNo.1はやや異なる傾向となっているが、死後24時間程度で粘性の損失エネルギーが最大となり、以後減少傾向を示している。

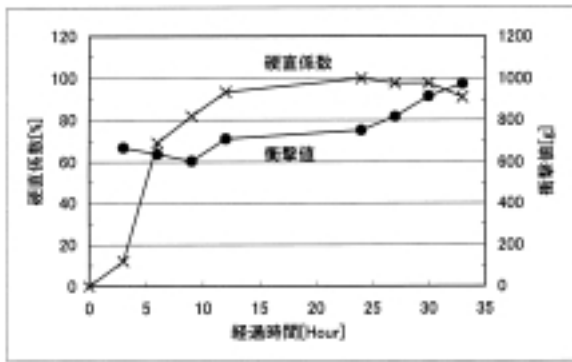


図3 硬直係数対衝撃値経時変化(マダイ)

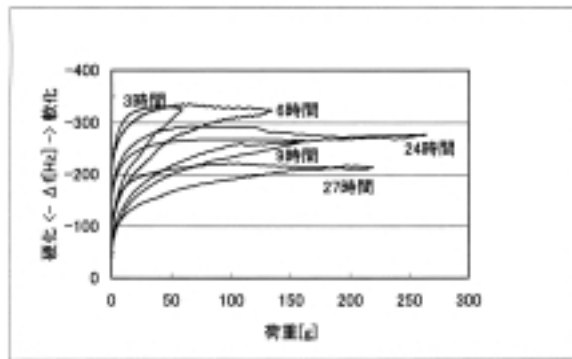


図4 荷重対触覚センサヒステリシス特性(マダイ サンプルNo. 3)

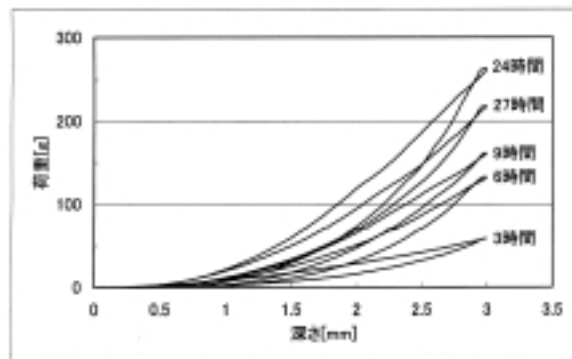


図5 深さ対荷重ヒステリシス特性(マダイ サンプルNo. 3)

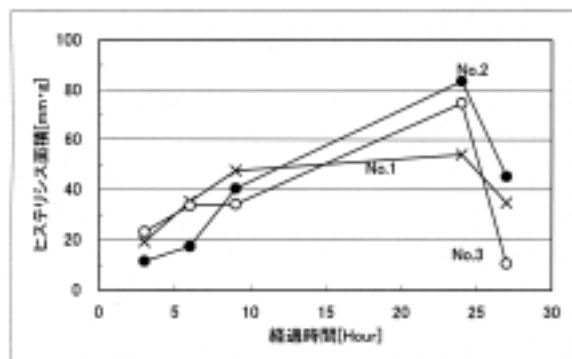


図6 荷重対荷重ヒステリシス面積経時変化(マダイ)

3.3. シマアジ

12月に浦ノ内で養殖された、シマアジをゴマサバと同様に水槽で1日蓄養後、即殺して実験を行った。供試魚は3尾で、平均体長は37.2cmであった。硬直係数と衝撃値の経時変化を図7に示す。硬直係数、衝撃値ともに、経時変化を示しているものの、衝撃値は6、30時間後の2点が特異な値となっている。

マダイと同様にヒステリシス面積の経時変化を求めた結果を図8に示す。サンプルNo. 1はやや異なる傾向となっているが、死後24時間程度で粘性の損失エネルギーが最大となり、以後減少している。

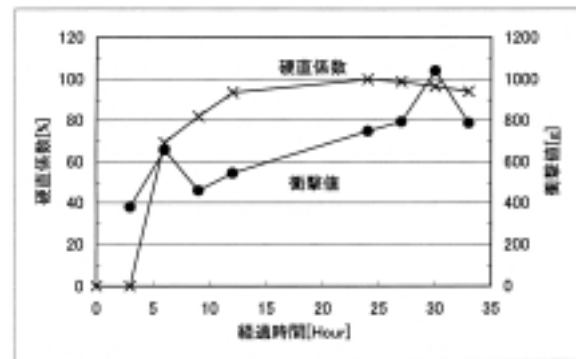


図7 硬直係数対衝撃値経時変化(シマアジ)

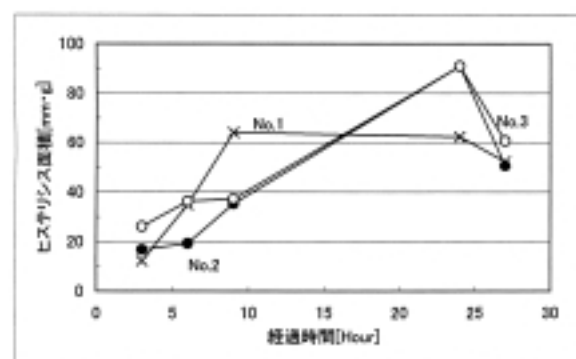


図8 荷重対荷重ヒステリシス面積経時変化(シマアジ)

4. まとめ

今回、魚肉の鮮度を推定する目的で、いくつかの簡易的な方法で魚体状態の測定を行った。いずれの方法でも、その測定値は経時変化を示し、魚体の変化状態を計測しているといえる。

硬直係数は、致死直後の魚体垂れ量の計測が必須であることと、どの魚種とも硬直係数が100%前後では変化量が少なく、またその時間が長いので、時間的に細かな鮮度管理に用いるためには分解能に難があると思われる。

衝撃値は、魚体衝突による損失エネルギーを代表するとの考えで行ったが、魚体表面の状態や衝突角度により、滑りを生じる場合があり、測定時にその数値の信頼性を評価する仕組みをが必要である。

触覚センサを用いた場合は、どの方法で評価するかという課題はあるが、触覚センサは直接魚肉硬さを検出しており、物性値に応じた数値処理手法が明かとなれば数値評価に適した手法といえる。また、押込み深さ対荷重曲線の粘性損失エネルギーの場合も同様に適すと考える。また、この方法の利点は、一点の測定値で評価しないため、測定時に魚体の滑りなどノイズ影響を判断しやすく、安定した測定が可能である。

これらの物理的手法で、魚体状態の経時変化が測定できることは明かとなったが、活魚ビジネスにおける鮮度指標は物理的、生化学的にも明確な基準がないのが実状である。今回の手法が、鮮度指標となるためには「活り」や軟化現象にともなうコラーゲン分解⁵⁾と

の相関性や、どの程度のばらつきが許されるか等を検討しなければならない。

最後に、本実験を行うにあたり触覚センサに関する様々なアドバイスや実験にご協力頂きました、日本大学工学部教授尾股定夫先生並びに(株)アクシム福間宏道氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) 刈谷他：高知県工業技術センター，(1999) 37-38
- 2) 尾藤他：東海水研報，190 (1983) 89-96
- 3) 尾股：電学論，117-E (7)，(1997) 355-358
- 4) 貝原他：バイオレオロジー，米田出版，(1999)
- 5) 魚肉軟化とコラーゲン分解：H12年度日本水産学会春季大会講演要旨集，(2000)，247，278-282
- 6) <http://www.axiom-j.co.jp>

技術第4部

樹木抽出成分の高度利用に関する研究

鶴田 望 篠原速都 西内 豊

A study of highly-utility an extracts from trees

Nozomu Tsuruta Hayato Shinohara Yutaka Nishiuchi

樹木抽出成分の新たな回収方法として、局所爆砕高周波減圧乾燥機の乾燥過程から生じる水分を収集し、その水分中から樹木抽出成分を回収することを試みた。収集した水は、当初水分を除去し直接樹木抽出成分を回収する予定であったが、うまく回収できず、溶媒抽出法にて回収することにした。溶媒に溶出させた樹木抽出成分をガスクロマトグラフィで成分分析した。定性分析した結果、ヒノキ材に含まれている樹木抽出成分は確認できたが、定量できるだけの含有量が無いことが判明した。

1. はじめに

木材にはセルロース、ヘミセルロース、リグニンの主要三成分以外に抽出成分といわれる物質を含んでいる。抽出成分は、また微量成分とも呼ばれ、木材中には数%しか存在せず、前述の三成分に比べて比較的低分子であり、その分子構造は多岐にわたっている¹⁾。抽出成分の大半は、揮発性物質であり、木の香りのほとんどは、この抽出成分に由来しているといえる。また、抽出成分は様々な機能を有している²⁻⁵⁾。例えば、我々の身近なところでは、クスノキの抽出成分であるショウノウが防虫剤として昔から利用されてきた。抽出成分の主物質であるモノテルペンは、殺虫、発育抑制、摂食障害、抗菌等の作用がある。そのため、抽出成分はまたフィトンチッド(殺傷能力をもつ揮発性成分)と呼ばれ、植物は自分の生育環境を維持するために常に放散している。ヒトにとって、抽出成分は脳などの中枢神経に作用し、働きを活性化させる。例えば、森林浴は、フィトンチッドを浴びる方法の一つとして有名である。抽出成分はヒトにとって有益であるので、様々な方面に使用され、少量であっても高い価値がある。

抽出成分を回収する手段として、一般的な方法は水蒸気蒸留である⁶⁾。水蒸気蒸留は、材や葉を蒸煮して抽出成分を回収するが、精製するには水を除去する必要がある。また、近年用いられ出した溶媒抽出や超臨界抽出は、溶媒または超臨界流体を適切に選択すれば、大量に抽出成分を得ることが可能であるが、設備等にコストがかかる欠点がある。

今回、高周波爆砕乾燥機を使用し、材の乾燥過程から生じる排水を収集し、抽出成分の回収を試みた。また、その成分が従来法で得られた抽出成分との相違を比較検討した。

2. 実験

2.1. 乾燥過程からの排水の回収

局所爆砕高周波乾燥機に、ヒノキの丸太材(平均重量92kg、平均長さ4m)を6本投入した。表1に示す乾燥条件下で生じた排水を回収した。その後、回収した排水をヘキサンならびにジエチルエーテルで溶媒抽出し抽出成分を回収した。抽出した画分は濃縮し、ガスクロマトグラフにより定性分析を行ない、各抽出画分について成分を比較した。

3. 結果と考察

ヒノキ丸太材の局所爆砕高周波乾燥過程から生じた排水は、100%回収できた。回収した排水は、直接エバポレーターで濃縮していたが効率が悪く、溶媒抽出法に切り替えた。ヘキサンならびにジエチルエーテル

表1 乾燥条件

蒸 煮 時 間	6 時間
温 度	83-85℃
発振サイクル	3 分発振・2 分停止
乾 燥 時 間	329時間
真 空 度	70-75 Torr
温 度	45℃
発振サイクル	3 分発振・7 分停止
総 発 振 時 間	87時間40分

を用いて溶媒抽出を行なった。これは無極性溶媒、極性溶媒のどちらかにしか溶けない成分があった場合の対処である。各画分は、エバポレーターで濃縮してガスクロマトグラフ（GC）用の試料とした。成分分析は HP 社の5890シリーズ II Plus Gaschromatograph を使用した。分離カラムには、JW 社の極性カラム DB-WAX と無極性カラム DB-5MS を用いた。抽出試料は、回収した水分のヘキサン抽出画分、ジエチルエーテル抽出画分、参照試料としてヒノキ葉油とおがくずのメタノール抽出画分を作成した。

3.1. 極性カラムの分析結果

図1(a)はヘキサン抽出画分の、図2(b)はジエチルエーテル抽出画分の、図1(c)はヒノキ葉油の、図1(d)は、メタノール抽出物の極性カラムでの分析したクロマトグラフのチャートを示す。

図1(a)のヘキサン抽出画分における成分は、保持時間9～20分までにピネン、エレメンといったモノテルペンが観察された。30～60分にはカジノールといったセスキテルペンが多く観察された。

図1(b)のジエチルエーテル画分では、20～35分までにモノテルペン類が、30～50分にセスキテルペンが観察された。図1(c)のヒノキ葉油では、保持時間6～35分でモノテルペンが、30～60分にカジノール等のセスキテルペンが確認できた。図1(d)のメタノールでは、30～40分にモノテルペンが、30～60分にカジノール類が観察された。

3.2. 無極性カラムの分析結果

図2(a)はヘキサン抽出画分の、図2(b)はジエチルエーテル抽出画分の、図2(c)はヒノキ葉油の、図2(d)はメタノール抽出物の無極性カラムでの分析したクロマトグラフのチャートを示す。

図2(a)のヘキサン抽出画分では、保持時間4～20分までにピネン、カレンといったモノテルペンが観察された。20～60分にはカジノールといったセスキテルペンが多く観察された。図2(b)のジエチルエーテル画分では、10～20分までにモノテルペン類が、20～30分にセスキテルペンが観察された。図2(c)のヒノキ葉油では、保持時間20分までにモノテルペンのみが観察された。図2(d)のメタノール抽出物では10～20分にモノテルペンが、40分以降100分程度までカジノール類が観察された。

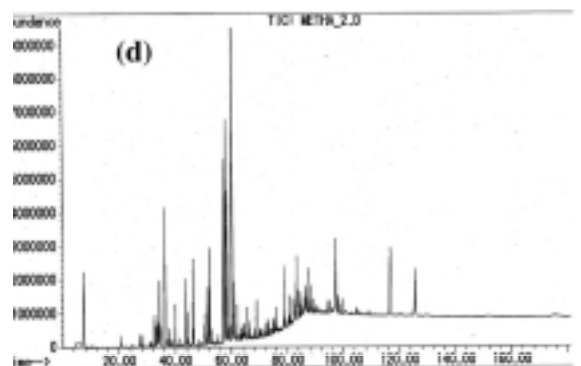
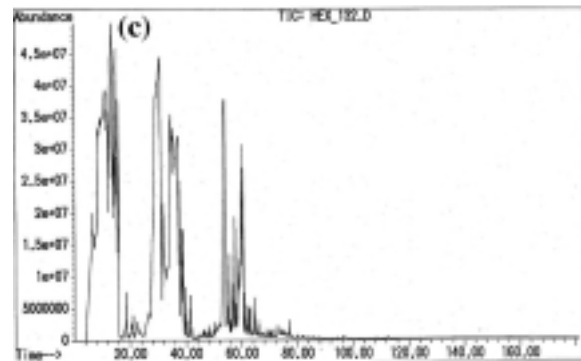
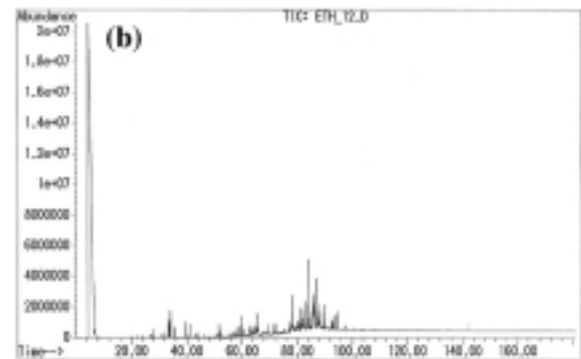
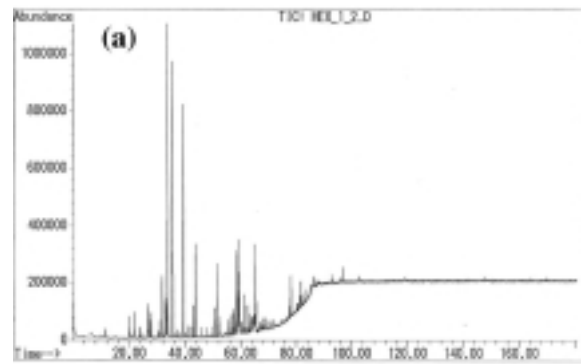


図1 極性カラムで分析したGCチャート
(a)ヘキサン抽出画分 (b)ジエチルエーテル抽出画分 (c)葉油 (d)メタノール抽出画分

3.3. 試料の比較

極性カラムにおいて、参照試料として用いたメタノール抽出画分と比較した場合、ヘキサン抽出画分では

ピネン、リモネンといったモノテルペン類がより早い時間から確認できた。ジエチルエーテル抽出画分でもこの傾向が観察された。また、カジノールなどのセキステルペン類でも、確認できた成分に差はなかった。

無極性カラムにおいて、参照試料として用いたメタノール抽出画分と比較した場合、ヘキサン抽出画分ではボルネオール、カレンといったモノテルペン類がより多く確認できた。ジエチルエーテル抽出画分では、ヘキサン抽出画分と同様にモノテルペン類が観察されたが、カジノールなどのセキステルペン類は、メタノールのほうに多く観察された。

3.4. 極性カラムと無極性カラム

極性カラムと無極性カラムの分離能を比較した場合、モノテルペン類に関していえば、無極性カラムのほうがより分離していた。しかし、カジノールなどのセスキテルペン類に関しては、分離能の優劣は観察できなかった。

4. まとめ

溶媒抽出した各画分の中に樹木抽出成分が確認できたことから、乾燥過程で生じる排水からも回収が可能であると示唆されるが、今回の試験においては、定量化が行えなかった。

これは、水分を回収しようとした乾燥過程に問題があると考えられる。高周波乾燥過程においては減圧、蒸煮、爆砕を繰り返す。樹木抽出成分は、揮発性物質であるために蒸煮過程では、乾燥容器内に放散されるが、爆砕処理を行うとき、大気圧に開放した際に水蒸気と共に大気中に拡散してと考えられる。管内に残っている水分は、蒸煮している際に、管内の飽和水蒸気圧に達した水分が結露し、排水として回収されたと示唆されるので、水溶性の樹木抽出成分の回収はある程度は可能であるが、高揮発性の物質は、容器内が減圧されているために気化し、水分と一緒に回収する事は非常に難しい。このような理由のため、十分に樹木抽出成分を回収できていないと考えられる。

また、比較検体としてヒノキ葉油を用いたが、材から抽出したヘキサン抽出画分、ジエチルエーテル抽出画分と比較してカジノール等のセスキテルペン類が観察されなかった。これは、材に由来する成分か、葉に由来する成分かの違いであるが、一般的には、害虫の忌避作用を有する物質は、材に由来するものが多い。今回、検出したセスキテルペン類にはカジノールの誘導体が多数観察された。カジノールは害虫忌避作用を

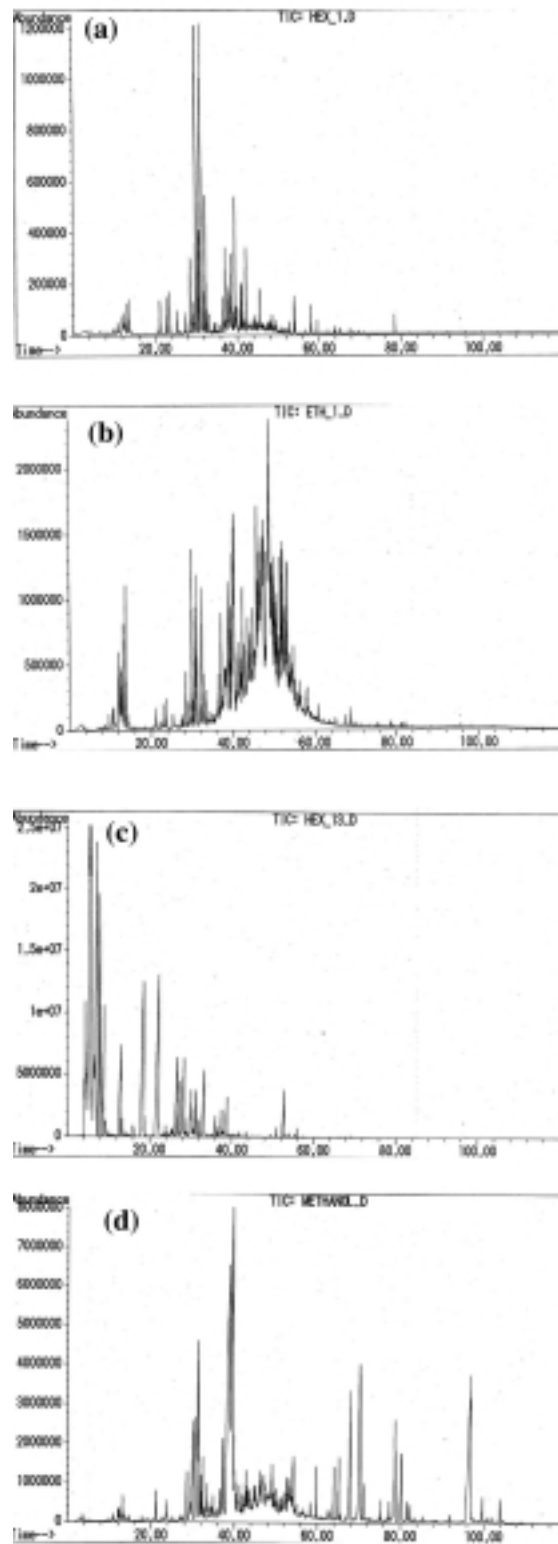


図2 無極性カラムで分析したGCチャート
(a)ヘキサン抽出画分 (b)ジエチルエーテル抽出画分 (c)葉油 (d)メタノール抽出画分

有しているため、今回得た排水が、害虫忌避材として利用できる可能性を示唆しているが、前述したように、爆砕過程の大気圧開放時の水分の回収も検討する必要がある。

参考文献

- 1) 阿部 勲、作野友康編：木材科学講座1 概論、第2章 海青社 (1998)
- 2) 谷田貝光弘：木材学会誌、第37巻 593 (1991)
- 3) 宮崎良文、本橋 豊、小林茂雄：木材学会誌、第38巻 903 (1992)
- 4) 宮崎良文、本橋 豊、小林茂雄：木材学会誌、第38巻 909 (1992)
- 5) 浅田隆之、石本登志、酒井 明、角谷和夫：木材学会誌 第35巻 581 (1989)
- 6) 今村博之、安江保民、岡本 一、横田徳郎、後藤輝男、善本和孝：木材利用の科学、第6章 共立出版(1986)

技術開発産学官連携促進事業

石灰系酸性ガス固定化材の開発（第1報）

固定化材の材料設計

河野敏夫 山本 順 浜田和秀 関田寿一

*Study on Development of A New Acidic Gas Fixative Made
from Lime Compounds (Part 1)*

Preparation of Acidic Gas Fixatives

Toshio KONO Jun YAMAMOTO Kazuhide HAMADA Toshikazu SEKITA

従来の消石灰（粉末）よりもハンドリング時の危険性の低い酸性ガス固定化材の開発を目的として検討を行った。より多くの比表面積を付与するために、木質系材料との複合化の手法をとった。水溶液にしたカルシウム塩を木質系材料に含浸させ、その後窒素雰囲気中で木質系材料部分を炭化、かつカルシウム塩部分を活性化させることによって環境適合機能材料としての材料設計を行った。

1. はじめに

本事業では、石灰系材料と木質系材料の複合技術を開発し、石灰系材料の化学的ガス吸着性能と、木質系材料の物理的ガス吸着性能という二つの吸着性能を付与させた環境適合機能材料の開発について検討する。この技術の開発によって、火力発電所、ゴミ焼却場等での中和処理効率の向上、およびそれに伴う焼却残渣の低減が可能となると考えられる。また、これら固定化材は、マクロ的には木質系材料であり、飛散性が低く、接触時に人体に与える影響が少ない。また酸性ガスの吸着反応に寄与するミクロ的な部分では、石灰質に起因する化学的吸着能および木質系材料に起因する物理的吸着能を併せ持つことから、酸性ガスの固定化について優れた性能が期待される。

本事業の初年度に当たる平成10年度は、石灰系酸性ガス固定化材の材料設計を主たるテーマとして検討を行った。

2. 実験方法

2.1. 原料

石灰系材料と木質系材料を複合化させるためには、石灰系材料を水溶液化し、木質系材料中に含浸させる必要がある。当初、水に対する溶解度の高いカルシウム塩を考慮して、硝酸カルシウム、塩化カルシウム等の無機系カルシウム塩を検討したが、熱分析測定の結果、

これらの無機系カルシウム塩は、酸化カルシウム（生石灰）や水酸化カルシウム（消石灰）といった活性の高いカルシウム塩に変化せず、溶融することから、有機系カルシウム塩（酢酸カルシウム）を用いることとした。木質系材料としては、含浸性を考慮して、スギ材部（高知県産）を用いた。

2.2. 含浸液の作成および含浸操作

市販の特級酢酸カルシウム1水和物を用いて、0.01、0.1、0.5mol/lのカルシウム濃度を持つ水溶液を作成し、pHおよび比重を測定した。また炭酸カルシウムを酢酸に溶解させることによって、1.0mol/lの溶液を作成した。これらの溶液を作成するに当たって、あらかじめカルシウムのファクターを求めた。

含浸操作は、10×10×50mm（半径方向×接線方向×繊維方向）にサイジングしたスギ材を105℃の乾燥器で乾燥させた後、デシケータに封入し真空ポンプを用いて約420Paまで減圧し、30分間保持した後、徐々に大気圧に戻しながら、濃度調整した酢酸カルシウム溶液を注入することによって行った。含浸の前後でスギ材の重量を測定し、含浸率を求めた。

2.3. 炭化処理

カルシウム溶液を含浸後、105℃の乾燥器中でスギ材を乾燥させ、管状炉を用いて、昇温速度10℃/分、

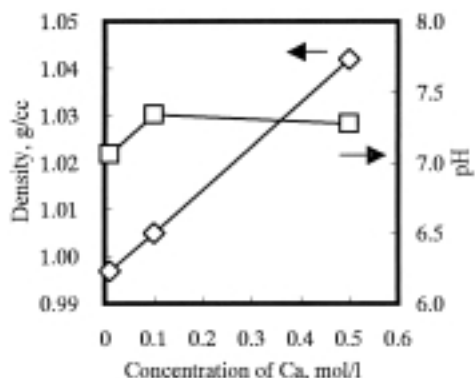


図1 含浸液の濃度と比重、pHの関係

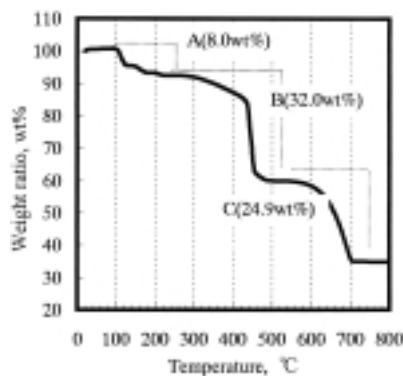


図3 酢酸カルシウム1水和物の熱分解挙動

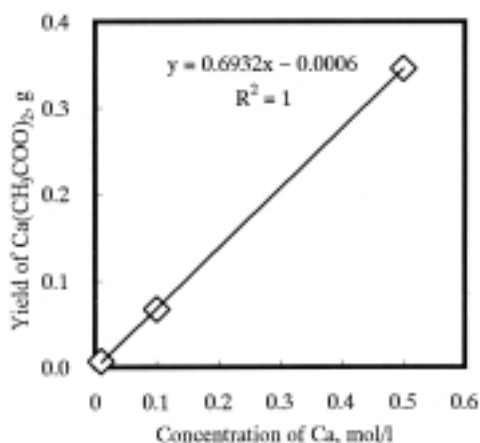


図2 含浸液の濃度と酢酸カルシウムの収率の関係

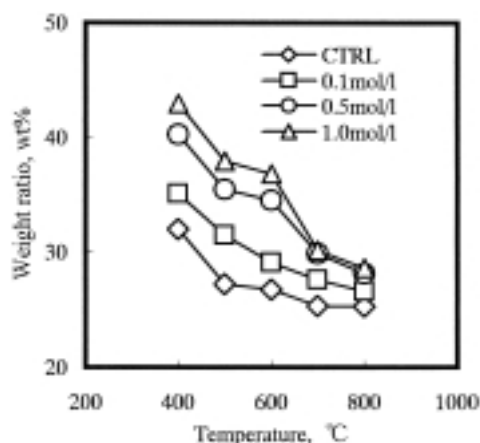


図4 炭化による重量変化

目標温度での保持を1時間、窒素雰囲気の中で炭化を行った。炭化の前後でスギ材の重量・寸法を測定し、重量・体積減少率を求めた。

2.4. 固定化材の物性評価

各温度で炭化した固定化材および無処理材について、X線回折測定および走査型電子顕微鏡による微細構造観察を行った。

3. 結果および考察

3.1. 含浸結果

図1に調整した含浸液の比重およびpHの測定結果を示す(溶液の作成方法が異なるため、1.0mol/lの溶液は測定から除外した)。含浸液の比重とカルシウム濃度には高い相関性があるが、pHについては相関性がみられない。酢酸カルシウム1水和物は水に溶解することで錯塩を形成することが考えられるため、pHについては相関性が発生しなかったものと思われる。

図2に含浸処理後の重量増と含浸液のカルシウム濃度の間接関係を示す。前述の図1における比重とカルシウム

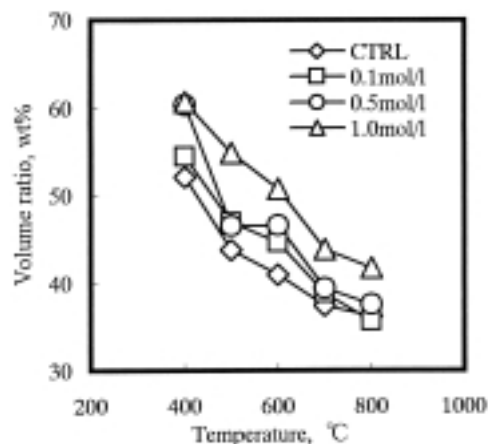


図5 炭化による体積変化

濃度の関係と同様に、重量増についても高い相関性がみられる。即ち、含浸する酢酸カルシウム1水和物の濃度を調整することによって、スギ材中に担持するカルシウムの量をコントロールすることが可能であるといえる。

3.2. 酢酸カルシウム1水和物の熱変化

市販の酢酸カルシウム1水和物の窒素雰囲気下(流量:100ml/min)での熱分析(TG)結果を図3に示す。

酢酸カルシウム 1 水和物は、大きく分けて三つの熱分解挙動を示す。酢酸カルシウム 1 水和物の分子式からそれぞれの熱分解挙動を推定すると、(1)式のように考えられる。

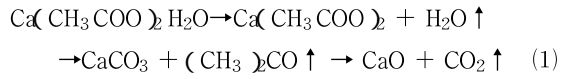


図3をもとに、固定化材の炭化条件は、400~800℃の間を100℃刻みとすることとした。

3.3. 固定化材の炭化温度による重量・体積の変化

図4、5からそれぞれ炭化温度の上昇に伴い、重量・体積とも減少する傾向が見られ、カルシウム濃度差間では、濃度の上昇につれ重量・体積とも減少率が低下している。このことはカルシウム濃度の増加に連れ、木材中に含まれるカルシウム化合物量が増加することを意味する。

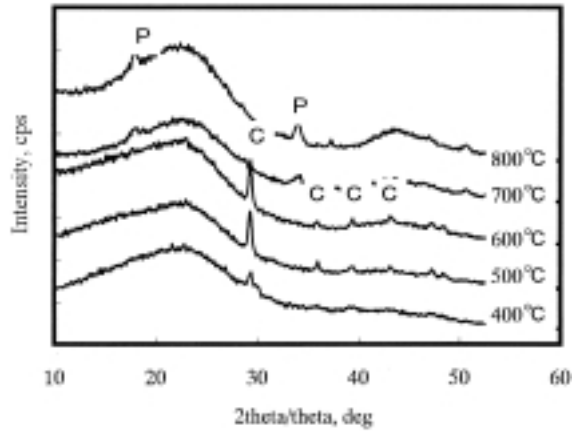


図6 Ca 濃度0.1mol/lの炭化後のX線回折パターン

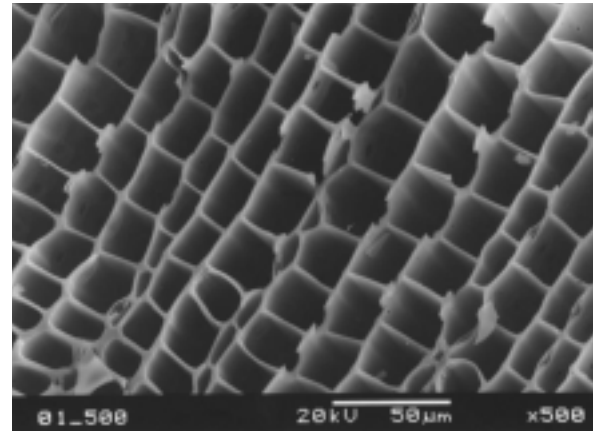


図9 Ca 濃度0.1mol/lの炭化後のSEM像

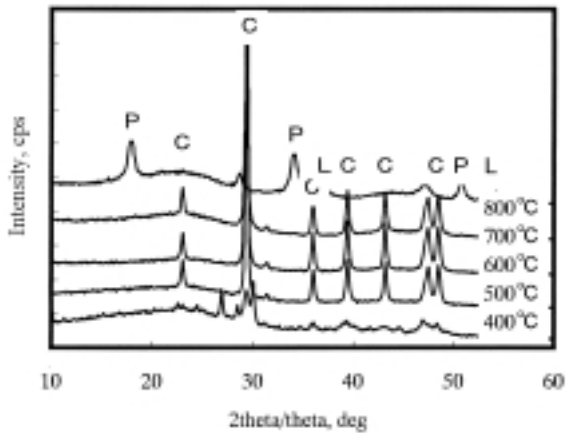


図7 Ca 濃度0.5mol/lの炭化後のX線回折パターン

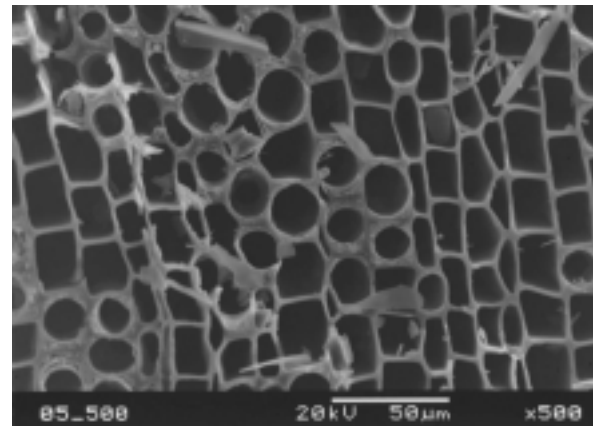


図10 Ca 濃度0.5mol/lの炭化後のSEM像

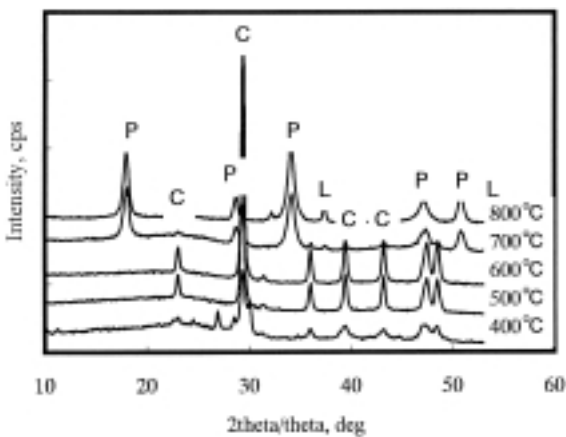


図8 Ca 濃度1.0mol/lの炭化後のX線回折パターン

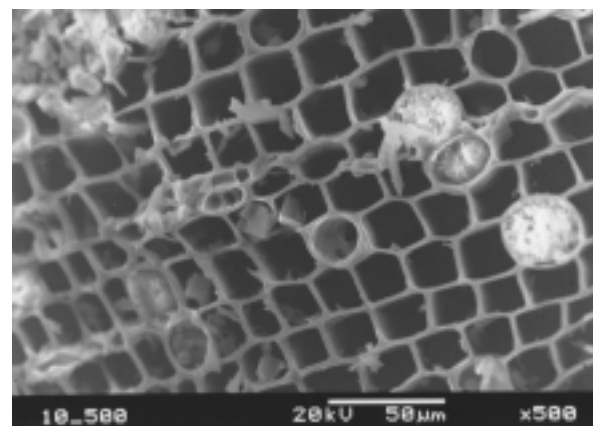


図11 Ca 濃度1.0mol/lの炭化後のSEM像

3.4. 固定化材の炭化温度による鉱物組成の変化

X線回折装置を用いて固定化材の鉱物組成の同定を行った結果を図6～8に示す。

カルシウム溶液の濃度の上昇に連れて検出されるピークの強度は増加し、バックグラウンドである炭化物との差が明確となった。

炭化温度による鉱物組成の変化に注目すると、400℃では、C: Calcite (炭酸カルシウム、 CaCO_3) および同定不可能な鉱物 (おそらく酢酸カルシウム、 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) が検出され、炭化温度の上昇に連れ、P: Portlandite (消石灰、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$)、L: Lime (生石灰、 CaO) が検出された。前述の酢酸カルシウムについて単体の窒素雰囲気下における熱分析を行った結果では、消石灰の生成は重量変化の面において推測されがたい。従って、消石灰の生成した理由は、1) 木材の熱分解によって発生した水分を生石灰が吸収したため、2) 木材中での酢酸カルシウムの熱分解挙動が単体の場合とは異なるため、3) 炭化操作からX線回折測定までの間に生石灰が空気中の水分を吸収したためのものであり、この三通りが考えられる。

3.5. 固定化材の微細構造

図9～11に固定化材の繊維方向に対して垂直面の

SEM像を示す。

図9～11から、カルシウム濃度の上昇につれ、組織内部へのカルシウム化合物の析出量が増える傾向がみられ、濃度の制御によって析出量をコントロールできることが可能と考えられる。しかしながら、カルシウム濃度0.1mol/lのものは、カルシウム化合物の析出がみられず、固定化材としては効果が低いと考えられる。

4. まとめ

石灰系酸性ガス固定化材の材料設計を目標として研究を行った結果、

- 1) 木材中に含浸するカルシウム化合物は、有機系カルシウム塩 (酢酸カルシウム1水和物) が最適である。
- 2) カルシウム溶液の濃度を調製することによって、固定化材中に担持するカルシウム化合物の量をコントロールすることが可能である。
- 3) 炭化温度700～800℃において、活性の高いカルシウム化合物 (消石灰、生石灰) が得られ、酸性ガスの化学吸着機能が期待されることが明らかになった。

デジタルエンジニアリングデータの共有と利用技術

部品設計データと計測結果に基づく加工データの自動生成

本川高男 刈谷 学 山本 浩 今西孝也 保科公彦

The sharing of digital engineering data and the use technique

The automatic generation of the part design data and the manufacture data which is based on the measurement result

Takao HONGAWA Manabu KARIYA Hiroshi YAMAMOTO
Koya IMANISHI Kimihiko HOSHINA

県内機械加工業が新規分野へ進出するためには、加工の高精度化は必要不可欠な技術である。高精度加工では加工後の計測データと設計データとの偏差から良否が判定される。本実験では、高精度なカム加工技術の確立を目的として、加工後のオンマシン計測について測定精度、計測時間、操作性、費用等の見地からレーザ変位計、接触式変位計、タッチプローブ計測を行い比較検討した。その結果、接触式変位計による方法が測定精度、費用、計測時間について他の方法より優れており最適であることが分かった。

1. はじめに

県内の中小企業ではCAD/CAMシステムとNC工作機械による高速・高精度加工分野への進出を望んでいる。その第一歩として、大企業が進出するにはメリットの少ない、カム加工分野をターゲットにカム設計から加工及び計測技術の開発を企業と共同で行うことにした。CAD/CAMシステムで設計し、グラインディングセンタで加工、計測はオンマシン計測及び3次元測定機を用いた。

カム加工では、カム軸用穴を開けた素材からの加工になるため、加工の良否はオンマシンでの計測が望ましい。そのため、レーザ変位計による非接触計測、接触式変位センサによる計測、工作機械主軸に取り付けたタッチセンサによる計測方法で行い、計測精度、計測速度、加工及び素材の脱着の容易さなどの特徴からカム計測に最適な方法を選択することとした。

また、修正加工のために測定結果と設計データとの偏差を求めた。

2. 実験方法

2.1. カム設計と加工

市場で多く使われているカムが2次元カムであるため、試作カム形状を、揺動型の板カムとした。カム機構とカム曲線として、変形正弦曲線を使ったタイミン

グ線図を作成し、カム設計支援ツールで、カムの輪郭形状の設計を行った。設計図を図1に示す。

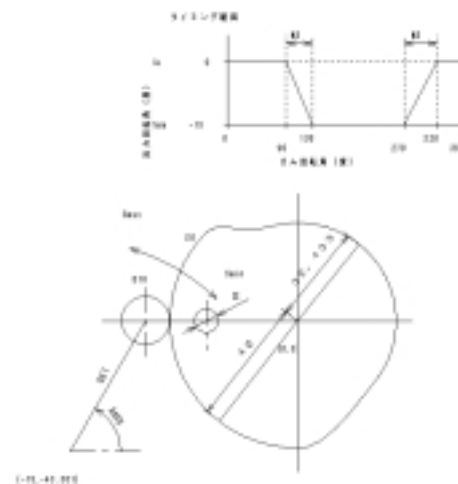


図1 カム設計図

設計した形状データからCAD/CAMシステムによりNCデータを作成した。加工機械の動きをできるだけ少なくするため、加工は写真1に示すように円テーブルに取り付けた加工治具に外径100mm、内径25mm、厚さ15mmの素材を固定し、円テーブルを回転させ、加工機は、直線1軸(X軸)のみの動きとした。工具はフォロア径と同じ16mmのエンドミル(4枚刃KOBELCO 超硬ミラクルコーティング)を使用し、

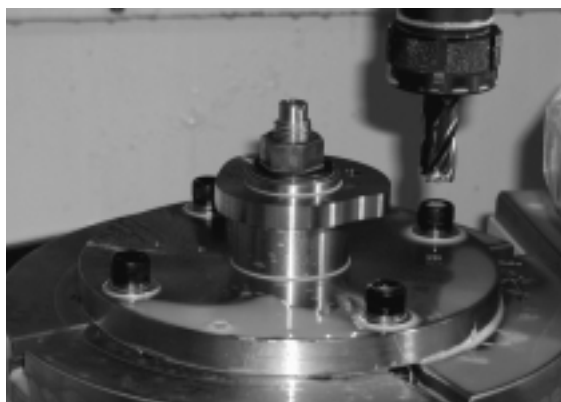


写真1 加工方法

被削材は S45C を用いた。切削条件は、周速 $V = 30\text{m/min}$ 、切削送り $F = 120\text{mm/min}$ 、アップカットで仕上げ加工を行った。試作加工したカムを写真2に示す。



写真2 試作カム

2.2. オンマシン計測

グラインディングセンタのベッド上で、加工後の板カムを加工工具から脱着せず、レーザ変位計により非接触で形状測定を試みた。測定に用いたレーザ変位計の諸元を表1に示す。また、測定時の構成を図2に、測定風景を写真3に示す。

計測用パソコンには、ロータリーエンコーダの回転角とレーザ変位計の値がRS-232Cを通じて同時に取り込むことが可能である。現状では、加工機側の円テーブルがNC制御されており、外部と同期を行うことが難しいため、外側にロータリーエンコーダを取り付け、回転角の測定を行わせている。

表1 レーザ変位計諸元

キーエンス社製 CCD レーザ変位センサ	
センサヘッド	LK-030
アンプユニット	LK-2000
基準距離	80mm
測定範囲	$\pm 15\text{mm}$
光源	赤色半導体レーザ 670nm
直線性	$\pm 0.1\%$ of F. S.
分解能	$1\ \mu\text{m}$ (※ RJ-800にて平均回数64回)

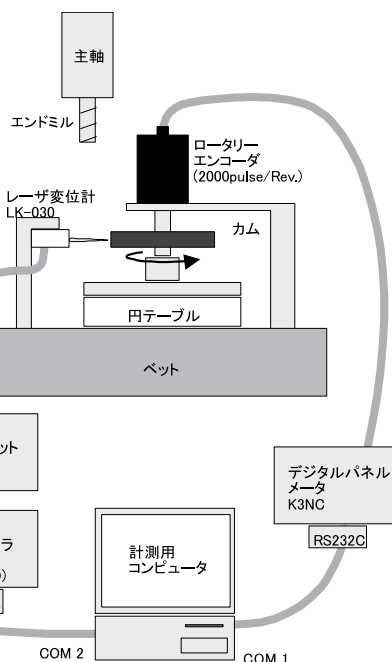


図2 レーザ変位計による測定システム

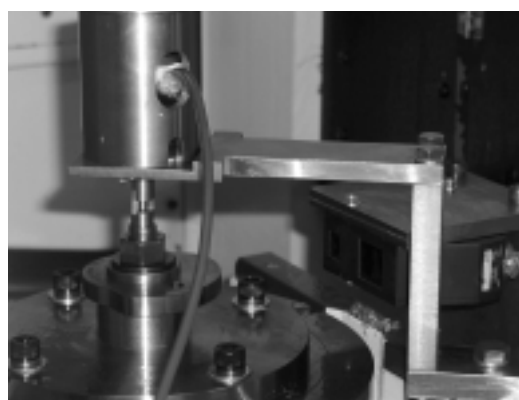


写真3 ベッド上でのレーザ変位計測定

2.3. 接触式変位計による測定

レーザ変位計の場合と同様にオンマシン上で、接触式変位計を用いて加工後の板カムの形状測定を試みた。測定に用いた接触式変位計の諸元を表2に示す。装置構成はレーザ変位計の場合と同じで変位計のみ接触式に付け替えて行った。接触式変位センサの先端は直径0.8mmの超硬合金のニードル型接触子を円錐角60°、先端半径0.32mmの形状に加工したものを用いた。

表2 接触式変位計諸元

キーエンス社製 接触式変位計	
センサヘッド	AF-030
アンプユニット	AF-350
測定範囲	30mm
指示精度(at +20°C)	$\pm 1\ \mu\text{m}$
繰り返し精度	$\pm 0.2\ \mu\text{m}$
測定力	1.3N以下
最大応答速度	1.3m/s

2.4. タッチプローブによる計測

切削 NC コードは加工工具中心軌跡 M 個の点群で構成されており、タッチプローブの計測結果はプローブ中心と N 個の点群で構成されている。また切削時は加工工具円がカムに接し、計測時はタッチプローブ円がカムに接している。よって、工具中心軌跡・プローブ中心軌跡を意識したオフセットを計算しなければならない。図 4 で示すように、オフセットは単純に各中心の距離の差で計算することはできない。

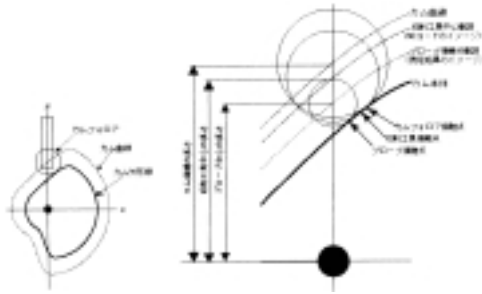


図 4 カム加工と測定の考慮すべき点

すなわち、カム曲線と加工工具と測定プローブはカムに接触する位置がそれぞれ異なるため、それを意識したオフセットを計算しなければならない¹⁾。

今回、加工 NC コードのイメージしている M 個の点群で示される工具軌跡 L_i と N 個のプローブ測定結果の中心軌跡 P_i を比較するため、両者の点群をカムの中心からの極座標で表し比較を行う。

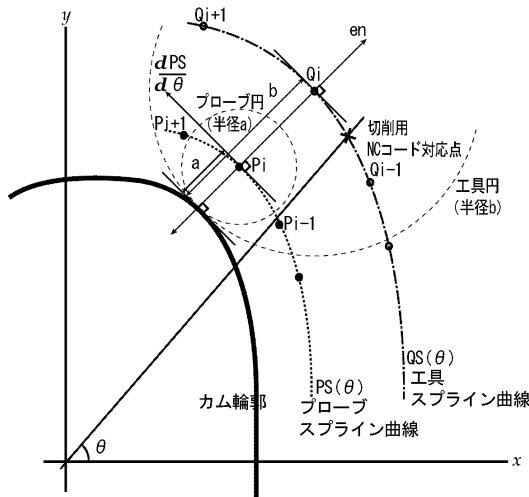


図 5 カムと接続円の関係

そのままではプローブ軌跡 P_i と工具軌跡 L_i は直接比較できないため、プローブ軌跡から推測される工具軌跡 Q_i を求めた後、比較を行う。推測工具軌跡 Q_i は

下記手順で求める²⁾。(図 5 カムと接続円の関係参照)

① N 個のプローブの測定結果の点群 P_i から周期 T の周期スプライン曲線 $r = PS(\theta)$ を求める。

N 個のプローブの測定結果の点群 P_i は $(r_0, \theta_0), (r_1, \theta_1), (r_2, \theta_2), \dots, (r_{N-1}, \theta_{N-1})$ で表される。

周期 T は 360 度であり、

$(r_0, \theta_0) = (r_N, \theta_N)$ である。

B スプライン関数 $B_{i,k}(x)$ を用いて周期 T (K-1) 次の周期スプライン曲線 $PS(\theta)$ を表す。

$$PS(\theta) = \sum_{i=0}^N \alpha_i B_{i,k}(\theta)$$

周期 T (K-1) 次の周期スプライン曲線 $PS(\theta)$ に N 個のプローブの測定結果の点群 P_i の値を代入し、 α_i に関する連立方程式を作成する。この連立方程式をガウスの消去法で解き α_i を求め、プローブの中心軌跡 $PS(\theta)$ を求めることができる。

② 求められたプローブの中心軌跡 $PS(\theta)$ を θ で微分を行い接線ベクトル・直交ベクトルを求める。

$PS(\theta)$ の微分を B スプライン関数の微分式 $D_x B_{i,k}(x)$ より求める。

$$DPS(\theta) = \sum_{i=0}^N \alpha_i D_x B_{i,k}(\theta)$$

この式に θ_i を代入しプローブ測定点 P_i における接線ベクトル $(DPS(\theta_i), \theta_i)$ を求め、さらにこの接線ベクトルに対する直交単位ベクトルを求める。

③ 直交単位ベクトル方向に工具半径 b からプローブ半径 a の差だけ移動した工具中心点群 Q_i を求める。

$$Q_i = P_i + (b - a) e_n$$

④ 工具中心点群 Q_i 元に工具中心点を補間する周期スプライン曲線 $QS(\theta)$ を $PS(\theta)$ を求めた方法と同様にして求める。

⑤ 周期スプライン曲線 $QS(\theta)$ を利用することにより任意の角度での工具位置が補間できる。よって、加工 NC コードのイメージしている点群 L_i で示される工具軌跡と周期スプライン曲線 $QS(\theta_i)$ とを比較し加工誤差を求めることができる。

加工 NC コード点群 L_i :

$(l_0, \theta_0), (l_1, \theta_1), (l_2, \theta_2), \dots, (l_{M-1}, \theta_{M-1})$

スプライン補間点群 Q_i :

$(Qs(\theta_0), \theta_0), (Qs(\theta_1), \theta_1), \dots, (Qs(\theta_{M-1}), \theta_{M-1})$

L_i と $Qs(\theta_i)$ とを比較し加工誤差を求める。

2.5.3 次元測定機による測定

通常、2次元、3次元物体の高精度測定は3次元測定機が使われている。そのため、各種のオンマシン計測と比較するために、3次元測定機で測定した。

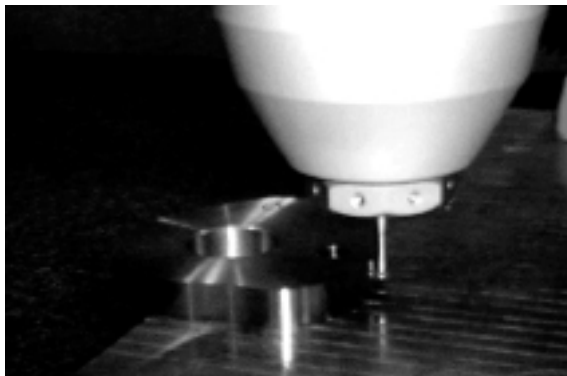


写真4 倅い測定

3次元測定機による測定は、写真4に示すようにカムの輪郭を倅いプローブ(測定子3mm)で測定した。用いた測定機は、3次元測定機(ミットヨ Bright Apex 1220)、測定精度 $(3.5 + 4 L/1000) \mu\text{m}$ 、倅いプローブ(ミットヨ MPP4)である。

3次元測定機を使った測定は、基本的に測定物を加工機から脱着しなければ計測できないため、加工座標と測定座標を同じに軸設定をしなければならない。特に、原点(回転中心)の設定が重要になる。よって以下のように計測結果の補正を行った。

測定手順

- ①手動で仮の座標系を設定する。
- ②手動の誤差をなくすため CNC 基準平面の設定(XY平面)制御で①を再設定する。
基準原点の原点設定(XY原点),
基準軸の設定(X軸)
- ③測定開始(CNC制御)
カムの輪郭を倅いプローブで一周し、0.05mmピッチで輪郭データを取得した。測定の所要時間は、約3分であった。
- ④測定データ処理
カムの測定で最も重要な要素であり、CAD/CAM

から得られる輪郭の設計データから照合する。例えば、図6のように設計データと計測データがずれている場合を考えると、CAD/CAMによる設計データは、NCプログラムの基となるデータであるため絶対的な数値である。しかし計測データは、加工機から取り外されたことにより、何らかの軸設定の誤差が生じる。よって設計データを基にして、軸の回転と原点の移動を行わなければ正確な測定データは得られない³⁾。移動の方法は、両者の誤差が最小になる部分に移動させた。

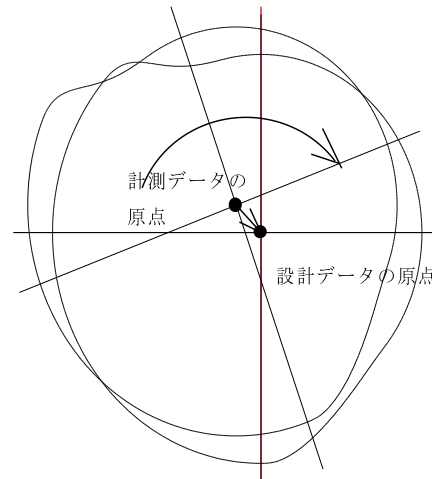


図6 設計との照合

以上の処理を行い3次元測定機での計測結果とした。ここで、設計データは、CAD/CAMの輪郭データから0.5度ピッチの極座標数値とし、720点を用いた。(NCデータ作成ピッチと同じにした。)

3. 実験結果及び考察

3.1. レーザ変位計の結果

図2に示す、円テーブルを6 deg/minで回転させ、0.18度ピッチで板カムの形状を全周にわたって自動測定した。この時のアナログコントローラの平均回数は128回とした。測定物である板カムの脱着を行わないため、加工中心点のずれは生じないが、計測時に円テーブルの角度データを取っていないため、加工角度原点と計測の角度原点にずれを生じる。そこで、設計データと計測データの変形正弦の形状部分の相関係数が最も高く(0.9995)なるよう、計測データをシフトし角度原点のずれを補正した。加工データと計測データの偏差を図7、偏差の自乗値を図8に偏差の統計値を表3に示す。

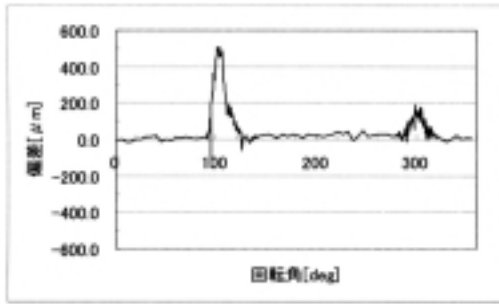


図7 レーザ変位計偏差

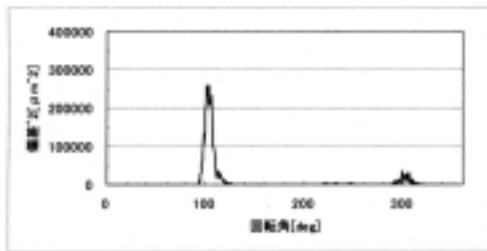


図8 レーザ変位計自乗偏差

表3 レーザ変位計偏差統計値

Max [μm]	508.111
Min [μm]	-156.889
Peak-Peak [μm]	665.000
標準偏差 [μm]	118.157

図7、8から変形正弦の形状部分に誤差を生じやすく、その値は最大 $500\mu\text{m}$ 程度の偏差となっており、標準偏差も $118\mu\text{m}$ となっている。また、本来フラットな偏差を示すべき、図1のドウェル（真円部分）部分にもばらつきを生じている。

そこで、回転角 $320\sim 90$ 度までをドウェル1区間とし、 $140\sim 280$ 度までをドウェル2区間とし最大値などの統計値を求めた結果を表4に示す。

表4より、ドウェル部分の標準偏差が $10\mu\text{m}$ 程度ある事がわかった。回転角 $0\sim 90$ 度の区間を抽出したものを図9に示す。

板カム切削面の送り方向面粗さは、 $R_y=1.8\mu\text{m}$ であった。

このばらつきは、CCDレーザ変位センサが板カム切削面の面粗さの影響を受け、切削面で反射されるレーザが散乱され CCD 結像面での像が乱されている可能性がある。

表4 レーザ変位計ドウェル部分統計量

	ドウェル1区間		ドウェル2区間	
	加工データ	レーザ計測	加工データ	レーザ計測
Max (mm)	42	42.0129	32.433	32.437
Min (mm)	42	41.9799	32.433	32.383
p-p (μm)	0	33	0	54
標準偏差 (μm)	0	9.590	0	11.402
分散	0	9.198E-05	0	1.30E-04

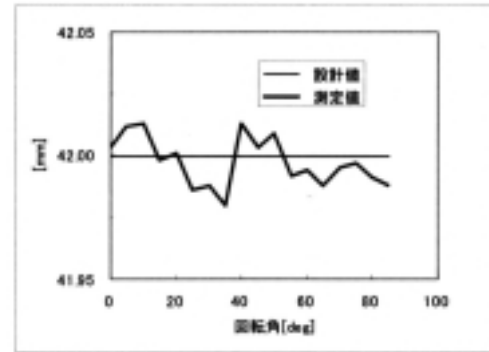


図9 ドウェル部測定結果

3.2. 接触式変位計の結果

レーザ変位計の場合と同様に、測定物である板カムの脱着を行わず測定を行った。加工データと計測データ原点のずれを、レーザの場合と同様に相関係数が最大(0.9999)となるよう、計測データをシフトし角度原点のずれを補正した。加工データと計測データの偏差を図10、偏差の自乗値を図11に、偏差の統計値を表5に示す。

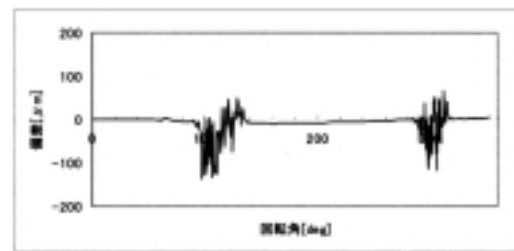


図10 接触式変位計偏差

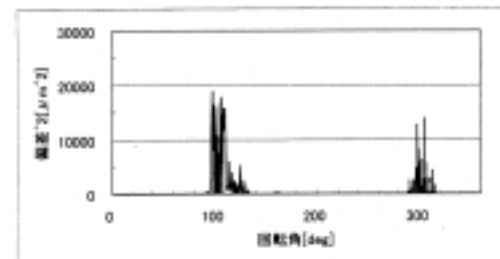


図11 接触式変位計自乗差

表5 接触式変位計偏差統計値

Max [μm]	65.000
Min [μm]	-137.000
Peak-Peak [μm]	202.000
標準偏差 [μm]	37.663

図10、11から変形正弦の形状部分に誤差を生じやすく、その偏差は最大137 μm となり、標準偏差は37 μm となった。また、ドウェル部分についてもレーザの場合と同様に統計値を求めた結果を表6に示す。

表6 接触式変位計ドウェル部分統計量

	ドウェル1区間		ドウェル2区間	
	加工データ	接触式計測	加工データ	接触式計測
Max (mm)	42	42.0007	32.433	32.444
Min (mm)	42	41.9995	32.433	32.433
p-p (μm)	0	12	0	11
標準偏差 (μm)	0	2.894	0	3.009
分散	0	8.373E-06	0	9.053E-06

接触式変位計では、標準偏差が3 μm 程度となっている。

3.3. タッチプローブでの結果

補間するプログラムの機能仕様書を作成するに止まり、プログラム本体未完成のため、比較することができなかった。

3.4. 3次元測定機の結果

3次元測定機での測定結果は、輪郭データ720点に対して設計値と照合した。その結果を図12、13及び表7に示す。表7より最大で1.5 μm 、最小で-3.5 μm 、幅で5 μm となった。

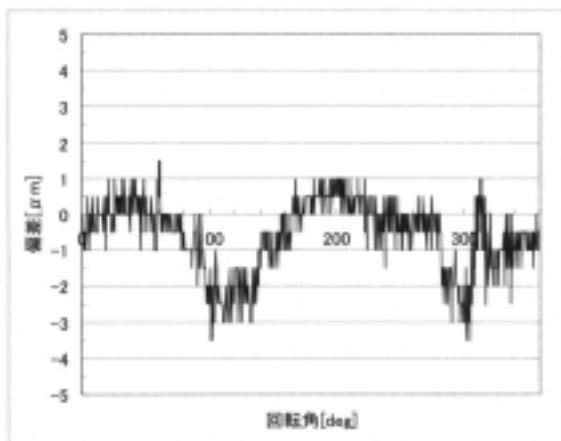


図12 3次元測定偏差

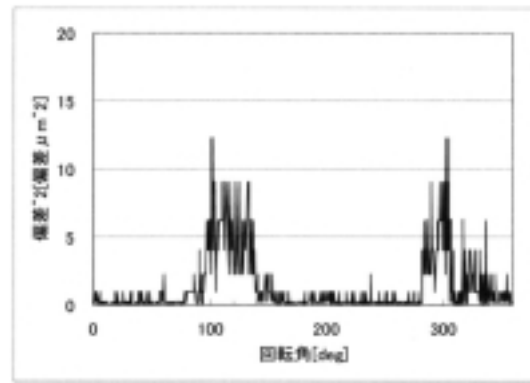


図13 3次元測定機自乗偏差

表7 3次元測定機

Max [μm]	1.5
Min [μm]	-3.5
Peak-Peak [μm]	5
標準偏差 [μm]	0.961

4. まとめ

2次元カムに対して、オンマシンでレーザ変位計による非接触計測、接触式変位計及びタッチプローブによる接触計測及び3次元計測を実施し、計測精度、時間、加工及び素材の脱着の容易さなどから最適な計測方法の検討を行った。

その結果、レーザ変位計による計測はドウェル部分においても偏差が大きく出た。その原因として、①レーザの反射特性が加工面粗さに依存する。さらに、②レーザの照射方向と加工治具中心との不一致、③使用したロータリエンコーダの分解能不足が考えられる。①については加工後の粗さは小さいけれども、ツールによる微細なヘアラインがカム軸と垂直方向にあるため、円形レーザの反射形状が楕円となる、その楕円形状が微妙に変わるものと思われる。特にレーザ照射軸に対して垂直からはずれる場合(傾斜面)に対してはその影響は大きい。②に関しては本年度は目視で設定したので、中心とのズレ量が不明なので補正ができなかった。③では特にカム曲線部分での影響が顕著に出た。

接触式変位計では①の影響は少なく、②、③はレーザと同じ誤差原因となる。しかし、レーザと比べて、偏差は1/3と少なくなっているため、それらの改善により精度の向上は期待できる。

3次元測定機が、今回最も測定精度が良く、計測時間も5分程度と短時間であった。しかし修正加工は不

可能である。

これらの結果から、今後はレーザ変位計はあきらめ、接触式での精度向上を目指す。そのため②の対策として治具を改良して設定精度を上げることとする。

タッチプローブに関しては、補正プログラムの正確さを確認する。

参考文献

- 1) J. Angeles & C. S. Lopez-Cajun : カム機構の最適化、日刊工業新聞社
- 2) 桜井 明 監修、高山文雄、吉村和美、菅野敬祐 著：Cによるスプライン関数、東京電機大学出版局
- 3) 日本カム工業会技術委員会編：カム機構図例集、日刊工業新聞社

技術指導施設費補助事業

超音波による簡易溶接部検査装置の開発

保科公彦 刈谷 学 本川高男

The Development of the Easy Ultrasonic Flaw Detector

Kimihiko HOSHINA Manabu KARIYA Takao HONGAWA

溶接構造物の内部欠陥の非破壊検査を行う場合、凹凸のあるビード表面から超音波を効率良く入射させる必要がある。曲面から効率よく超音波を入射させることを目的に、焦点型探触子を用いた部分水浸法により内部欠陥の測定を行った。その結果、非焦点型探触子では検出できなかった曲面での直径1mmドリル欠陥が焦点型探触子を用いることで容易に欠陥を検出することができた。

1. はじめに

超音波探傷試験は超音波を利用して、構造物や金属材料におけるきずなどの内部欠陥を非破壊に検出できる方法である。溶接部の非破壊検査は、主に超音波による斜角探傷法で行われ、これには超音波の基礎知識と探傷技量が要求され、溶接施工者自身が検査資格を持ち非破壊検査を行うことは大きな負担となる。そのため、基礎知識を必要とせず、探傷技量も要求されない簡易型で大まかな内部欠陥の判定可能な装置が望まれる。

昨年度は、凹凸のあるビード表面から超音波を効率良く入射する方法として、薄いゴムの中に溶液を封入し、探触子と被検部の間に挟む部分水浸法を用いた溶液等の選定を行い、水が探触子から発生した超音波を通しやすい性質であることがわかった。しかし、曲面では超音波の入射が困難であり、欠陥から反射する欠陥エコーを検出することは困難であった。

そこで、今年度は曲面から効率よく超音波を入射させるため、焦点型探触子を用いた部分水浸法により内部欠陥の測定を行った。測定には、曲面を持つテストピースを用いて行った。

2. 実験方法

曲面から効率よく超音波を入射させるため、焦点型探触子を用いた部分水浸法により内部欠陥の測定を行った。焦点型探触子を用いた理由として、焦点を被検部表面に合わせることで、被検部中を超音波が広

がるように入射し、欠陥を検出しやすくなると考えた。そのため、図1に示す治具を製作した。部分水浸法で測定を行うため治具の中は、昨年度選定した水で満たし、先端に厚さ0.1mmのゴムキャップを装着した。探傷条件として5MHz、直径0.25inch、焦点距離2inchの超音波探触子を使用し、探傷感度を32dBで測定を行った。被検部として、曲面からの超音波の入射を確認するためにR6の曲面を持つテストピースの直径1、2、4mmドリル欠陥と、大きさ約1mmのブローホールの欠陥が深さ2mmと8mmにあるテストピースを用いて欠陥エコーの検出を行った。また、比較のために同探触子を用いて水浸法で、欠陥エコーの検出も行った。

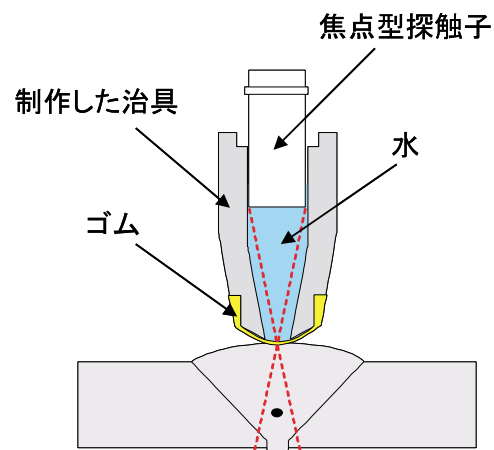


図1 測定方法

測定装置は、デジタル超音波探傷器（日本クラウトクレマー製、USD15）を用い、比較のための水浸法

には超音波探傷試験映像化装置（日本クラウトクレマー製、SDS-61000）を用いて行った。

3. 実験結果

焦点型探触子に水を満たした治具を装着し、垂直に押しつけ欠陥エコー高さが最も高い値を測定した。図2に溶接欠陥テストピースを測定したときのAスコープを示す。Aスコープには表面エコー、底面エコーおよび欠陥エコーが表示され、表面エコーから底面エコーまでの深さは約20mmであり、測定した溶接欠陥テストピースの厚さとほぼ同じである。縦軸は各反射源から戻ってきた超音波パルスの信号の強さ、いわゆるエコー高さを示し、欠陥エコーを底面エコーで割った値を用いて測定結果を示す。

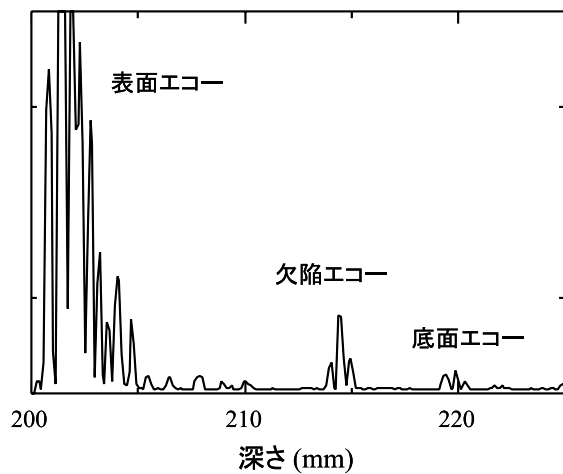


図2 Aスコープでの測定例

図3にR6の曲面を持つテストピースの直径1、2、4mmドリル欠陥を用いて得られた測定結果を示す。また、比較のための水浸法の測定結果も示す。

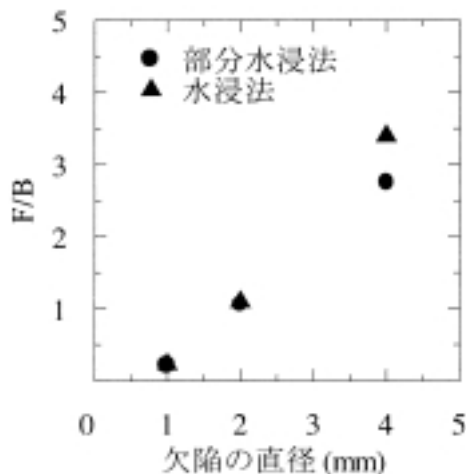


図3 R6曲面での測定結果

曲面での測定結果は、前年度の非焦点型探触子では検出できなかった曲面での直径1mmドリル欠陥が焦点型探触子を用いることで容易に欠陥を検出ことができ、同探触子を用いた水深法との比較においてもほとんど変わらない結果が得られたことから、この方法は有効であることがわかる。欠陥の位置による測定では、深さ8mmにある大きさ約1mmのプロール欠陥も検出ことができ、水浸法との比較でもほとんど変わらない結果が得られた。しかし、欠陥位置が深さ2mmでは検出することができなかった。検出できなかった原因として、図4に示すように表面から約5mmにある欠陥エコーは、表面エコーと重なってしまい、そのため欠陥エコーを判別することが困難となり検出することができなかった。また、底面の溶接不良部についても底面エコーと重なってしまい、欠陥エコーを検出することが困難である。

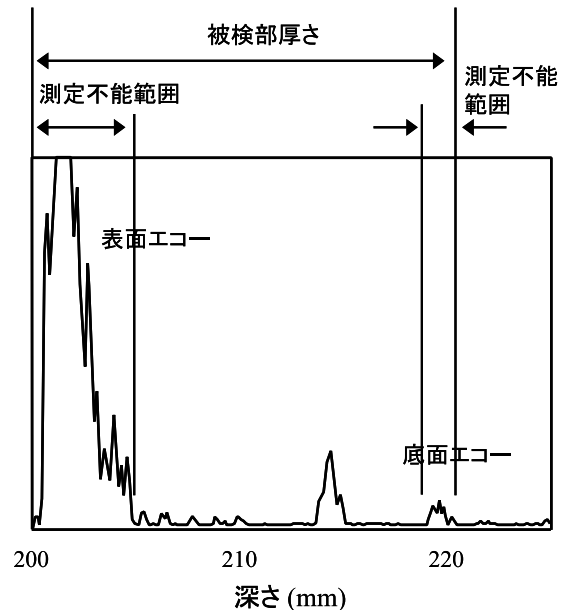


図4 Aスコープによる測定結果

4. まとめ

焦点型探触子を用いた部分水浸法により内部欠陥の測定を行った。その結果、曲面での直径1mmドリル欠陥が焦点型探触子を用いることで容易に欠陥を検出ことができ、水深法との比較でも変わらない結果が得られたことから、この方法は有効であることがわかる。問題点として、表面から約5mmと底面近傍に測定不能範囲が存在することから、これらを改良する必要がある。

地域コンソーシアム研究開発事業

Mirror-Surface Finishing of CVD Diamond Film by ELID Grinding

Kazuhito NISHIMURA *), *Weimin LIN* **) and *Hitoshi OHMORI* **)

Abstract

CVD diamond is a promising new industrial material with potential applications in electronics, optics, and other fields. One such application is in high frequency (short wavelength) optical components. Use in optical components requires processing the diamond surface to an atomic order finish with nanometer precision. ELID grinding using a cast iron bonded diamond wheel with a high grit concentration was tested as a means of polishing a CVD diamond thin film to a sufficiently high precision. ELID grinding was shown to achieve a ductile mode yielding a high quality, subnanometer-order mirror finish. We expect to use this method to prepare an X-ray mirror using a CVD diamond thin film.

Key words : CVD diamond, ELID (Electrolytic In-process Dressing), X-ray mirror, cast iron bonded diamond wheel, mirror finish grinding

1 . Introduction

Diamond is used in many different fields because of its many outstanding properties¹⁾. Advances in gas-phase synthesis techniques have made it possible, using chemical vapor deposition (CVD) methods, to form high-quality diamond films covering large surface areas and on 3D objects²⁻⁴⁾. A promising new industrial material, CVD diamond has applications in mechanical parts, optical elements, and electronic components⁵⁻⁷⁾. The authors have previously reported results from their studies of CVD diamond in wear-resistant parts and optical elements⁸⁾.

A demand is also beginning to appear for reflecting mirrors for use with short-wavelength X-ray optics. Optical components for use in the X-ray band require aspherical surfaces shaped with nanometer precision and surface roughness on the angstrom order⁹⁾. X-ray optics are also exposed to high-energy light, and must therefore be processed with a technique that will not

leave a degenerated surface layer. Ductile mode grinding¹⁰⁾ is expected to achieve this.

In this paper, the authors consider the effectiveness of electrolytic in-process dressing (ELID grinding) using a cast iron bonded diamond wheel with excellent abrasive retention on CVD diamond processing.

2 . Methods

CVD diamond was polished by ELID grinding, and the surfaces of the CVD diamond and wheel were then examined using an electron probe microanalyser (EPMA), a scanning white light interference microscope, and an atomic force microscope (AFM)

An approximately 20 μm thick CVD diamond thin film was formed on a silicon nitride substrate using a hot filament CVD method under the conditions shown in Table 1. The surface roughness of the resulting diamond film was 10 to 20 microns. A test piece was then prepared by grinding this diamond thin film to a

Table 1 Film deposition conditions

Source gas	CH ₄ + H ₂
Methane concentration	0.5 vol%
Pressure	8 kPa
Filament temperature	2400k
Substrate temperature	1200K

技術第 3 部

*) Kochi Prefectural Industrial Technology Center
3992-3 Nunoshida Kochi-City, Kochi 781-5101
Japan

**) The Institute of Physical and Chemical Reserach
(RIKEN) 1-7-13 Kaga Itabashi-ku, Tokyo
173-0003 Japan

surface roughness of several nanometers using a resin bonded diamond wheel. The cast iron bonded diamond wheel was trued using a common grinding wheel, and the trued wheel was then used for ELID grinding under the conditions shown in Table 2.

Table 2 ELID dressing conditions

Grinding wheel	SD325-100-M cast iron bonded
Wheel speed	3 and 14 m/sec
Grinding depth	5 μm
Feed rate	0, 2, 3, and 8 mm/sec
Polishing compound	dry

3 . Results and considerations

Figure 1 shows the diamond abrasive on an electrolytically dressed cup wheel. Note that the strong abrasive grain for metal bonding is destroyed by truing the wheel, leaving the abrasive mounted with sharp peaks.

Figure 2 shows the secondary electron image (SEI) and oxygen, iron, and carbon images, obtained from EPMA observation of the cast iron bonded diamond wheel surface. The area above the arrow in the middle of the SEI shows the wheel area used for CVD diamond grinding. Note that the bonded surface is flattened by CVD diamond grinding. The lower half of the

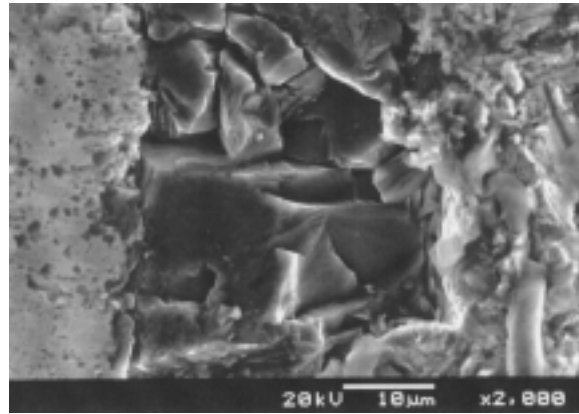


Fig. 1 Diamond abrasive after electrolytic dressing

picture shows the wheel surface after electrolytic dressing. Also, note the pear-like appearance of the wheel surface.

From the oxygen image we know that the surface of the bond material is oxidized by electrolytic dressing, and this oxidation layer is removed from the area used for grinding. From the iron image we know that strength is increased where the oxidation layer has been removed (in the upper part of the image). The carbon image shows the distribution of diamond abrasive. Note that the distribution is substantially uniform. Loss of abrasive is not apparent.

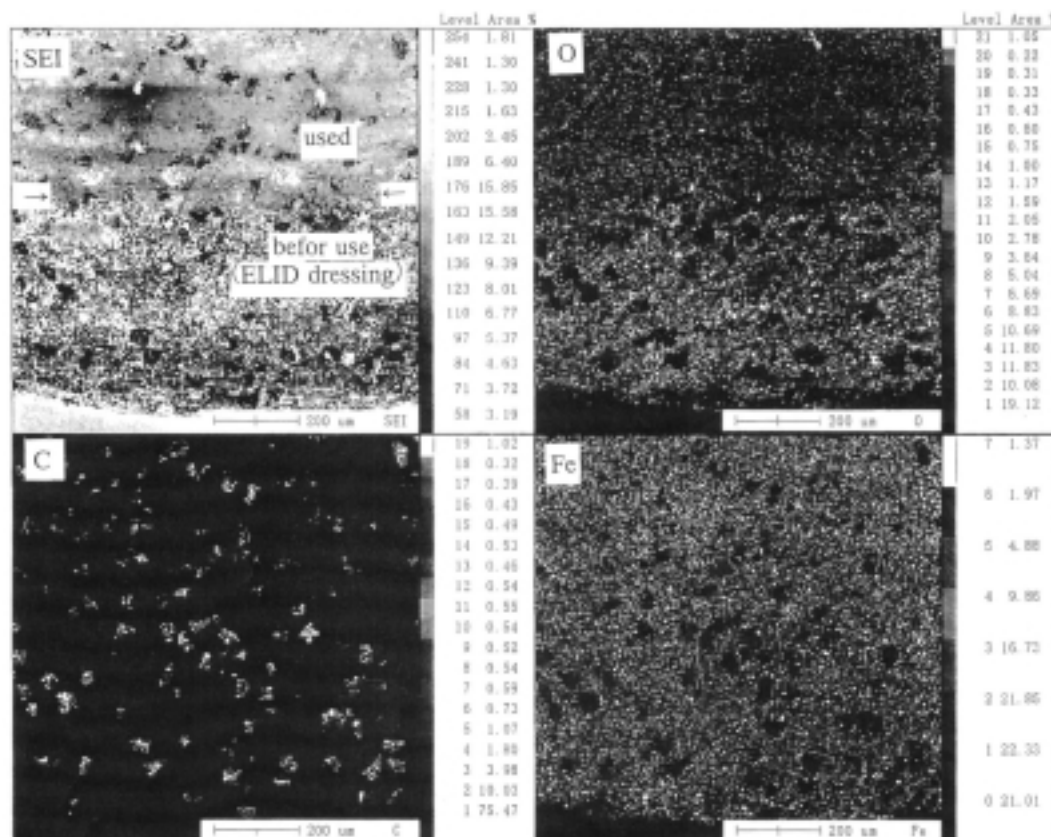


Fig. 2 Surface analysis of cast iron bonded diamond wheel

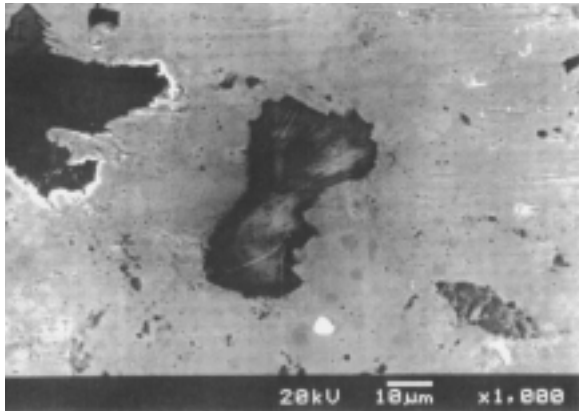


Fig. 3 Diamond abrasive after ELID grinding

Figure 3 shows the abrasive and bond on the wheel after grinding. No loss of diamond abrasive was observed for any of the processing conditions. However, the # 325 diamond abrasive with an average grain diameter of $63 \mu\text{m}$ was worn flat by CVD diamond grinding, producing a trued surface free of face runout.

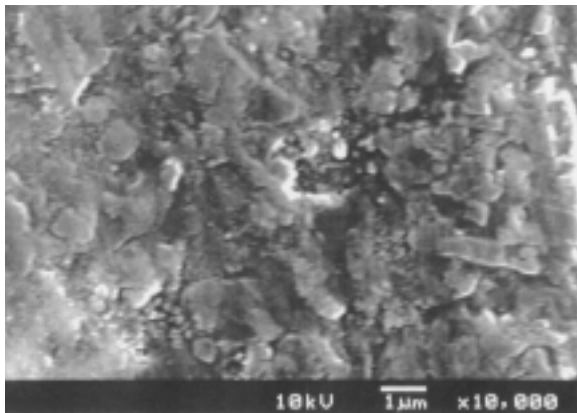


Fig. 4 ELID ground CVD diamond surface (2 μm depth of cut)

Figure 4 is a SEI of the finished CVD diamond surface after ELID grinding with an SD325-100-M cast iron bonded diamond wheel turning at 850m/minute with a 200mm/minute feed rate and $5 \mu\text{m}$ grinding depth. The diamond thin film is efficiently ground as a result of brittle failure. Grinding did not cause the diamond film to peel.

Figure 5 shows the results of grinding with the same wheel and under the same grinding conditions but with the test piece held at an angle. The depth of cut on the angle ranged from 0 to $5 \mu\text{m}$. Because diamond is hard and brittle, reducing the depth of cut changes the behavior of the diamond as it is ground. The area shown

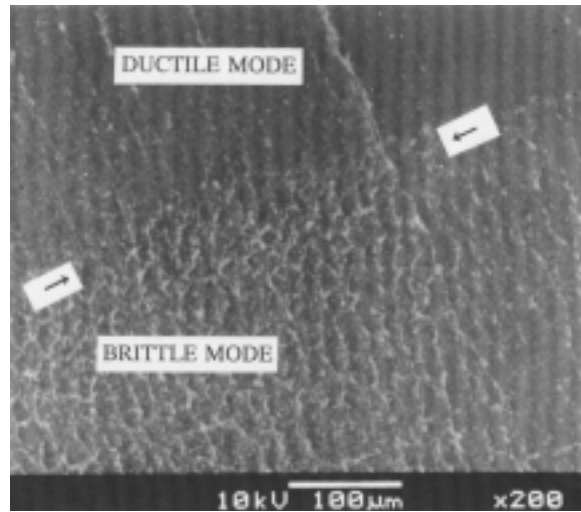


Fig. 5 ELID ground CVD diamond surface (0.1 μm depth of cut)

in Fig. 5 is at an approximately $0.1 \mu\text{m}$ depth of cut. The depth of cut increases from top to bottom in this figure. The appearance of the ground surface changes above and below a line running horizontally through the middle of the figure 5. The lower part of the picture is a critical area in which there is a transition to a ductile mode and a reduction in brittle failure, and the upper part of the figure shows the ductile mode transition area.

Research into processing hard and brittle materials has generally focused on ductile mode processing in which the depth of cut is controlled to a constant, sub-micron level¹³⁻¹⁵. The depth of cut and the processing rate (feed rate) are factors controlling deformation and failure mechanisms when processing hard and brittle materials¹⁶. The cast iron bonded diamond wheel is a type of diamond wheel with high rigidity. The concentration of abrasive grain must be increased to improve shape retention. ELID grinding is required when using a cast iron bonded diamond wheel with high rigidity and shape retention.

Figure 6 shows the CVD diamond surface after grinding with a resin bonded diamond wheel. The surface was ground using an SD325-75-B cup wheel driven at 1000m/minute, and was then examined using a scanning white light interference microscope. Note the differences in elevation that may be attributed to lines in the abrasive grains and crystal grain anisotropy. The surface was polished to 4.6 nmRa.

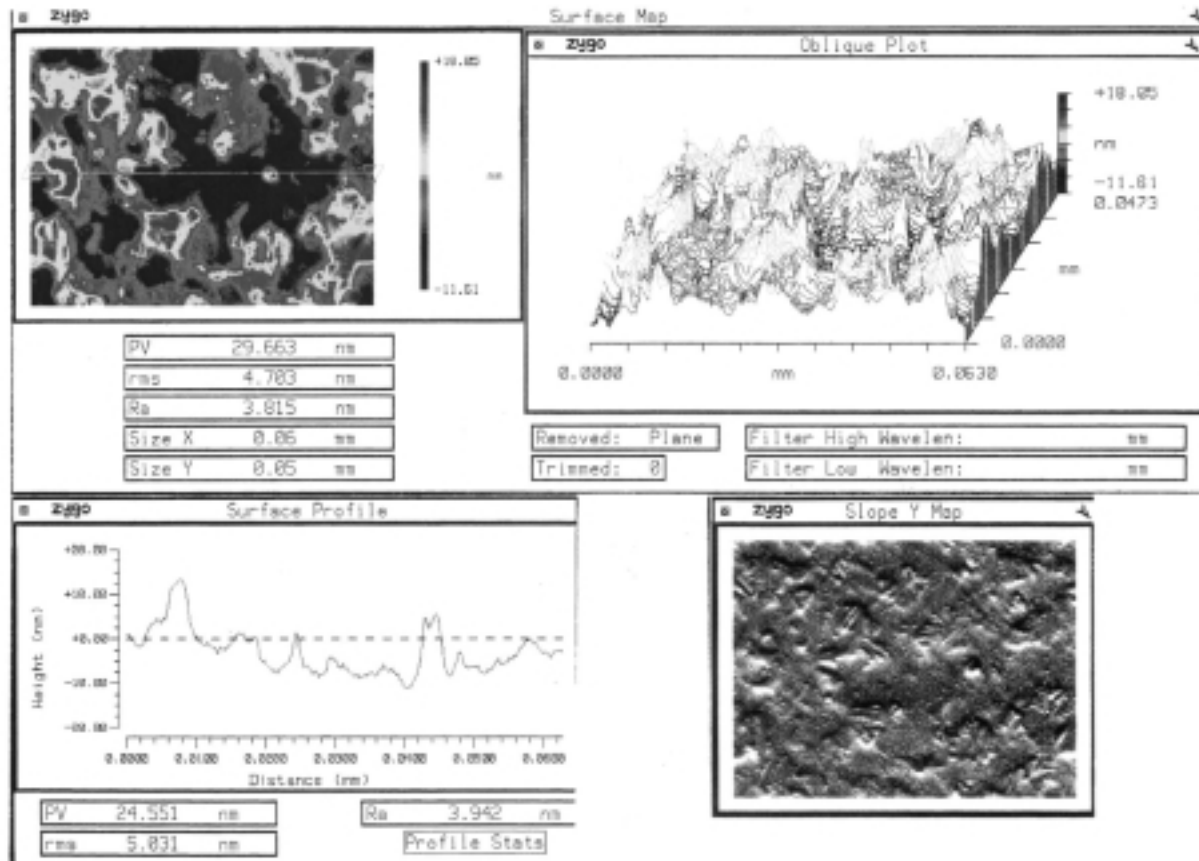


Fig. 6 CVD diamond surface ground with a resin bonded wheel (observed with a scanning white light interference microscope)

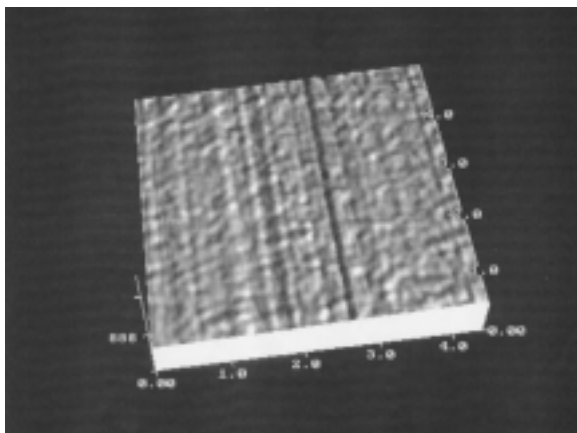


Fig. 7 CVD diamond surface ground with a resin bonded wheel (observed with AFM)

Figure 7 shows the AFM observation of the same CVD diamond film shown in Fig. 6. Note that the surface was successfully polished to several nanometers, though in an area only $5 \mu\text{m}$ square. Note that unground spots are also observed.

Figure 8 and Fig. 9 show the CVD diamond surface after grinding with the # 325 cast iron bonded diamond wheel. Figure 8 was obtained using a scanning white light interference microscope, and Fig. 9 with

AFM; both images were obtained using the same test piece. Note that lines from the abrasive grain are transferred to the test piece, which was also polished to a 0.4 nmRa surface roughness. Compared with the surface shown in Fig. 7 obtained using a resin bonded wheel with the same grain diameter, the cast iron bonded diamond wheel with a high Young's modulus and grain bonding strength yields a better polished surface.

The diamond abrasive shows wear as a result of CVD diamond film grinding. We believe that mirror surface polishing is possible even using a coarse abrasive because the grain height is matched, resulting in a flat grinding surface on the wheel.

Crystal orientation is a major factor in the mechanical processing of diamond. Depending on the crystal face, the grinding direction can produce significant differences in wear and friction characteristics even, on the same crystal face¹⁷⁾. Some grinding methods actively use these differences in the direction of crystal grinding to process singlecrystal diamond¹⁸⁻²²⁾. The grinding mechanism and the relationship between crys-

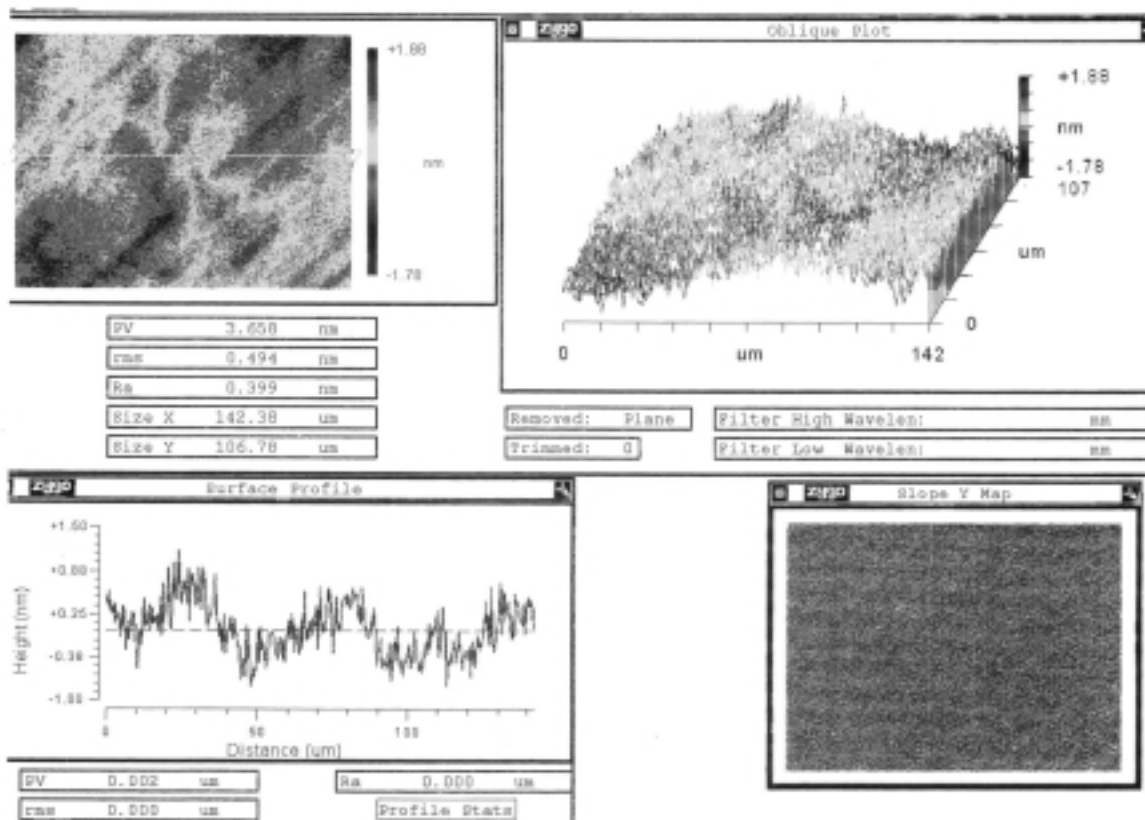


Fig. 8 CVD diamond surface polished with ELID grinding (observed with a scanning white light interference microscope)

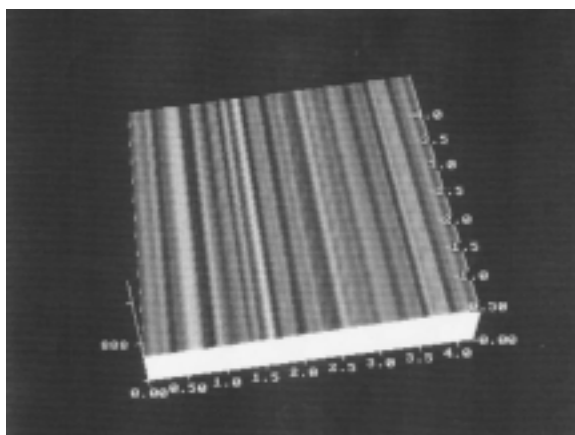


Fig. 9 CVD diamond surface polished with ELID grinding (observed with AFM)

tal orientation and the precision of the finished mirror surface²³⁾ in diamond processing using a resinbonded wheel and diamond processing with free abrasive grain on a steel Scaife (or Skeif) disk are beginning to be understood.

CVD diamond forms a polycrystalline diamond film, and the mechanism of grinding a CVD diamond film by mechanical means is complicated by such factors as the diamond synthesis conditions and crystal defects.

Research has conventionally focused on processing natural single crystal diamond and high-pressure synthetic diamond. It is therefore necessary to consider the differences between grinding these and CVD diamond films, as well as the chemical reaction²⁴⁾ on the bonding material of the transition metal. It was, however, possible to finish polycrystalline diamond using a cast iron bonded diamond wheel, to a 0.4nmRa surface roughness while leaving uniform lines.

4 . Conclusions

Using an SD325-100-M cast iron bonded diamond wheel for ELID grinding of a CVD diamond film:

- 1) it was possible to efficiently process the CVD diamond film in a brittle mode with a depth of cut of several microns;
- 2) a transition from brittle mode to ductile mode processing was confirmed with a depth of cut of 0.1 μm or less; and
- 3) polycrystalline diamond was polished to a 0.4 nmRa surface roughness.

Reference

- [1] J. E. Field (editor) : “ The Properties of Diamond ”(Academic Press, London, 1979)
- [2] S. Matumoto, Y. Sato, M. Kamo and N. Setaka: Jpn. J. Appl. Phys., 21(1982)L183.
- [3] A. R. Chourasia, D. R. Chopra, S. C. Sharma, M. Green, C. A. Dark and R. C. Hyer: Thin Solid Films, 193/194(1991)1073.
- [4] H. Liu and D. S. Dandy: Diamond and Rel. Mat., 4(1995)1173.
- [5] M. Murakawa, S. Takeuchi, H. Miyazawa and Y. Hirose: Surf. Coat. Technol., 36(1988)303.
- [6] R. S. Sussmann: Industrial Diamond Review : 53, 555(1993)63.
- [7] M. W. Geis, D. D. Rathman, D. J. Ehrlich, R. A. Murphy and W. T. Lindley: IEEE Electron Device Lett. 8,(1987)341.
- [8] K. Kurosawa, R. Sonouchi, W. Sasaki, M. Katto and K. Nishimura: Optical Eng., 34(1995)1405.
- [9] S. Aoki: Jpn. J. Appl. Phys., 26, 6(1987)952.
- [10] J. Verkerk: CIRP Annals, 32, 1(1983)255.
- [11] H. Ohmori and T. Nakagawa: CIRP Annals, 39, 1(1990)329.
- [12] Y. Hagiuda, K. Karikomi and T. Nakagawa: CIRP Annals, 30, 1(1981)277.
- [13] K. E. Puttick, M. R. Rudman, K. J. Smith, A. Franks and K. E. Lindsey: Proc. Roy. Soc. London, A 426(1989)19.
- [14] J. Yoshioka, F. Hashimoto, M. Miyashita, A. Kanai, A. Abe and M. Daito: ASME M. C. Shaw Grinding Symposium, 16(1985)209.
- [15] S. Malkin and J. E. Ritter: J. Eng. Industry, 111(1989)167.
- [16] H. Opitz: CIRP Annals, 16(1968)61.
- [17] J. Whitlock and A. L. Ruoff :Scrip. Metal., 15, 5(1981)525.
- [18] J. Wilks: Precis. Eng., 2, 2(1980)57.
- [19] E. H. Kraus and C. B. Slawson: Amer. Mineral. 24, 11(1939)661.
- [20] E. M. Wilks: Phil. Mag., Ser7, 43, 346(1952)1140.
- [21] M. Seal: Proc. R. Soc., London, Ser A, 248, 1254(1958)379.
- [22] E. M. Wilks and J. Wilks: J. Phys., Ser D, Appl. Phys., 5, 10(1972)1902.
- [23] K. Uegami, K. Tamamura and K. K. Jang: J. Mech. Working Technol., 17(1988)147.
- [24] K. Miyoshi and D. H. Buckley: Applications of Surface Science, 6(1980)161.

平成11年度高知県工業技術センター研究報告第31号
平成12年11月1日 印刷発行

〒781-5101 高知市布師田3992-3

編集兼
発行所 高知県工業技術センター

Kochi Prefectural Industrial
Technology Center

印刷所 西村 騰 写 堂

この資料は再生紙を使用しています。

この資料は再生紙を使用しています。