

旭川工業高等専門学校

研 究 報 文

第 57 号

JOURNAL

OF THE

NATIONAL INSTITUTE of TECHNOLOGY,

ASAHIKAWA COLLEGE

NO.57

令和 2 年 2 月 / February, 2020

目 次

学術論文

水耕栽培および土壌栽培作物に対するカルシウム強化剤としての ホタテ貝殻の活用	古 崎 睦 1 長 嶋 啓 太 三 谷 泰 史
---	-------------------------------

研究紹介

<i>Cladosporium</i> spp.と <i>Aureobasidium</i> spp.に対する ラベンダー油の抗カビ活性の評価	富 樫 巖 9 鈴 木 夕 湖 林 志 門
<i>Cladosporium</i> spp.と <i>Aureobasidium</i> spp.に対する ラベンダー蒸留水の抗カビ活性の評価	富 樫 巖 16 早 川 恭 世 鈴 木 夕 湖
学生用実習教材の開発	江 口 篤 史 24

CONTENTS

Papers

- Application of Scallop Shells for Calcium-fortified Agent
for Hydroponic and Soil Crops Atsushi FURUSAKI 1
Keita NAGASHIMA
Yasufumi MITANI

Study Introduction

- Evaluation of inhibitory effects of a lavender-volatile oil
on the growth of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp. Iwao TOGASHI 9
Yuumi SUZUKI
Shimon HAYASHI
- Evaluation of inhibitory effects of a lavender-floral water
on the growth of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp. Iwao TOGASHI 16
Masayo HAYAKAWA
Yuumi SUZUKI
- Development of practical training materials for students Atsushi EGUCHI 24

水耕栽培および土壌栽培作物に対する カルシウム強化剤としてのホタテ貝殻の活用

古崎 睦^{*}
長嶋 啓太^{**}
三谷 泰史^{**}

Application of Scallop Shells for Calcium-fortified Agent for Hydroponic and Soil Crops

Atsushi FURUSAKI
Keita NAGASHIMA
Yasufumi MITANI

Abstract

We have investigated the effective reuse of scallop shells such as filling materials to the concrete, materials for cat litter and catalysis for bio-diesel fuel (BDF) synthesis and so on.

In this study, we tried to grow hydroponic crops such as mung bean sprouts and radish sprouts, and soil crop such as garden radish with many cultivation solutions dissolved of some concentrations of calcined scallop shells, then we studied the effects of cultivation solutions on the yields and the calcium contents of crops.

1. はじめに

北海道で毎年 10~20 数万トン排出されているホタテ貝殻の有効利用を目指し、筆者らはこれまでコンクリート充填材¹⁾、猫砂材料²⁾、バイオディーゼル燃料合成触媒³⁾などへの活用・応用について検討を行ってきた。

本研究では、「スーパーえのき」⁴⁾や「ピロール野菜」⁵⁾などのように、通常の作物より格段にカルシウム含有量を増やしその付加価値を高めた高ミネラル作物に着目し、ホタテ貝殻焼成物を溶解して調製した様々な『栽培液』を用いて水耕栽培作物（緑豆もやし・カイワレ大根）や土壌栽培作物（二十日大根）の栽培を試みた。栽培液の種類やその中のカルシウム濃度が作物の収量やカルシウム含有量に与える影響を調べ、最も効率良い強化条件はどのようなものか検討を行った。

* 物質化学工学科教授

** 物質化学工学科卒業生

2. 実 験

2.1 緑豆もやしの栽培と分析

『栽培液』として、①水道水（対照）、②ホタテ貝殻焼成物の飽和水溶液（貝殻を大気中 1000℃で 4 時間焼成して得られた焼成物を水に溶解し、未溶解分をろ別して調製）、および同焼成物の③塩酸溶液・③'硫酸溶液・③''硝酸溶液を用いた（濃度は 0.5～3.0-貝殻焼成物 g/L）。②においては、固形の焼成物が混在したまま栽培液として用いると生育過程で豆が腐敗する傾向が認められたため、ろ別を徹底した。また、③～③''の各溶液については、貝殻溶解後に 2M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて中性～弱塩基性程度になるよう pH 調整を行った上で、栽培液として使用した。

市販の緑豆を 1～2 日間水に漬けて発芽させた後、調製した各々の栽培液を浸した脱脂綿上に発芽豆を各 30 粒置いて、23℃の暗所で 1 週間栽培した（図 1）。



図 1 緑豆もやしの栽培状況

収穫した緑豆もやしは、種 30 粒当たりの収穫本数、平均質量および平均長さを計測後、電気炉中 500℃にて恒量になるまで灰化した（図 2）。灰分の質量を測定後、6M 塩酸 120mL を加えて湯浴上で蒸発乾固し、さらに 3M 塩酸 120mL を加えて未溶解分をろ別後、ろ液を洗液と共にメスフラスコに移して定容した。

試料溶液中のカルシウム量は、イオン化干渉を抑制するため水酸化カリウムを過剰量添加した条件下において、フレイム式原子吸光分析法（日立偏光ゼーマン原子吸光光度計 ZA3000）にて定量した。

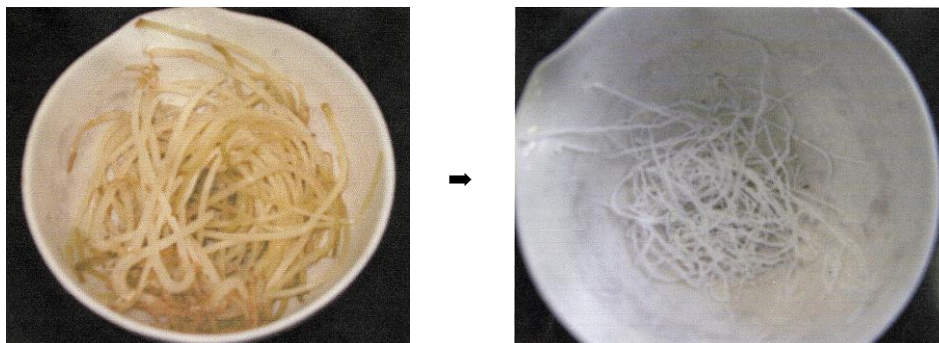


図 2 緑豆もやしの灰化（500℃）

2.2 カイワレ大根の栽培と分析

『栽培液』には、①水道水（対照）、②ホタテ貝殻焼成物の飽和水溶液、同焼成物の③塩酸溶液・③'酢酸溶液・③''リンゴ酸溶液（濃度は 0.5~2.0-貝殻焼成物 g/L）に加え、④ホタテ貝殻焼成物の浸漬水（貝殻焼成物を栽培用小石の下に敷き、水道水を注いで調製）を用いた。500mL ペットボトルを半分に分けた栽培容器に小石を 2cm 程度敷き、その上に市販のカイワレ大根の種を 20 粒蒔き入れた（図 3(a)参照）。種が少し浸る程度まで上記の各栽培液を入れ（栽培液④の場合には、小石の下に粗砕した貝殻焼成物を 1cm 程度敷いた上で水道水を注ぎ入れ；図 3(b)）、23°Cの暗所で 6 日間放置、更に日の当たる場所で 1 日光合成させて 8 日目に収穫した（図 4）。

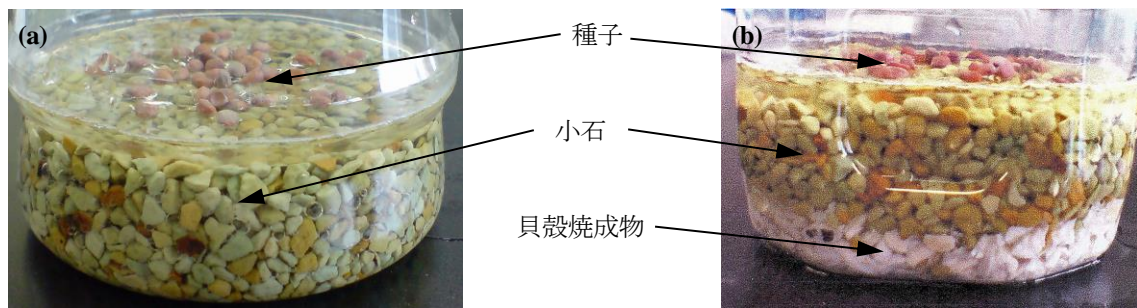


図 3 カイワレ大根の栽培容器 ((a)は水道水、ホタテ貝殻焼成物の飽和水溶液、および同焼成物の塩酸溶液・酢酸溶液・リンゴ酸溶液を用いた場合、(b)はホタテ貝殻焼成物の浸漬水を用いた場合で、小石の下に粗砕した貝殻焼成物を 1cm 程度敷いている)

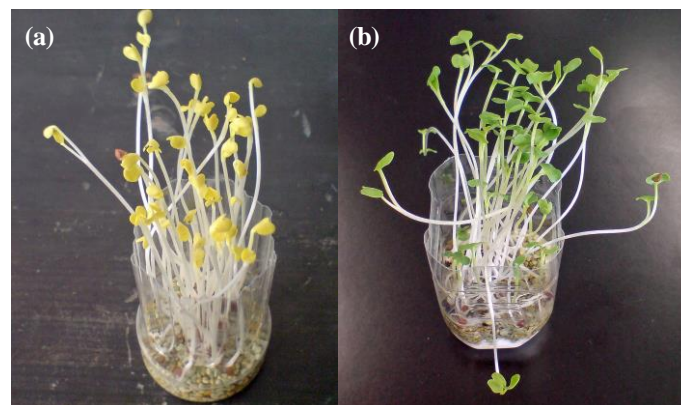


図 4 カイワレ大根の栽培状況 ((a)は暗所放置 6 日目、(b)は(a)の後に 1 日光合成)

採取したカイワレ大根は、種 20 粒当たりの平均質量および平均長さを計測後、電気炉にて大気中 550°C で恒量になるまで灰化した（図 5）。灰化後は前述 2.1 と同様の操作で分析を行った。

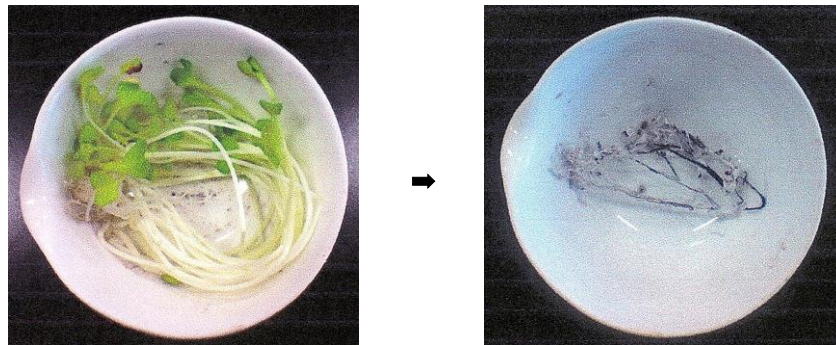


図 5 カイワレ大根の灰化 (550°C)

2.3 二十日大根の栽培と分析

『栽培液』には、①水道水 (対照) および②ホタテ貝殻焼成物の飽和水溶液を用いた。市販の肥料入り栽培土に市販の種を 20 粒蒔き入れ、室温下直射日光の当たらない明るい場所において、適宜①・②の栽培液を同量与えながら追肥なしで 4 週間栽培した (図 6)。

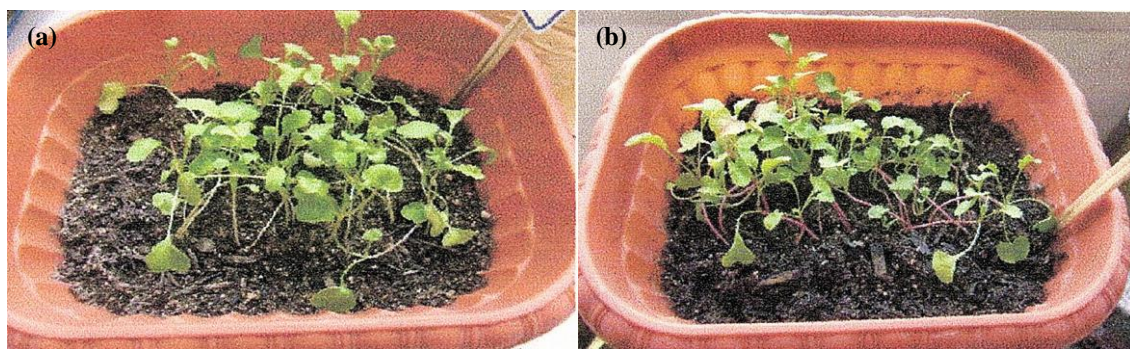


図 6 二十日大根の栽培状況 ((a)は水道水, (b)はホタテ貝殻焼成物の飽和水溶液を使用。共に栽培 2 週間目)

収穫した二十日大根は、1 株当たりの平均質量を計測後、電気炉にて大気中 600°C で恒量になるまで灰化し、その後は前述 2.1 と同様の操作で分析を行った。

3. 結果および考察

3.1 緑豆もやしの栽培と分析

図 7 に、各栽培液を用いて収穫された緑豆もやしの平均質量、平均長さ、および作物 100g 当たりのカルシウム含有量を示す。

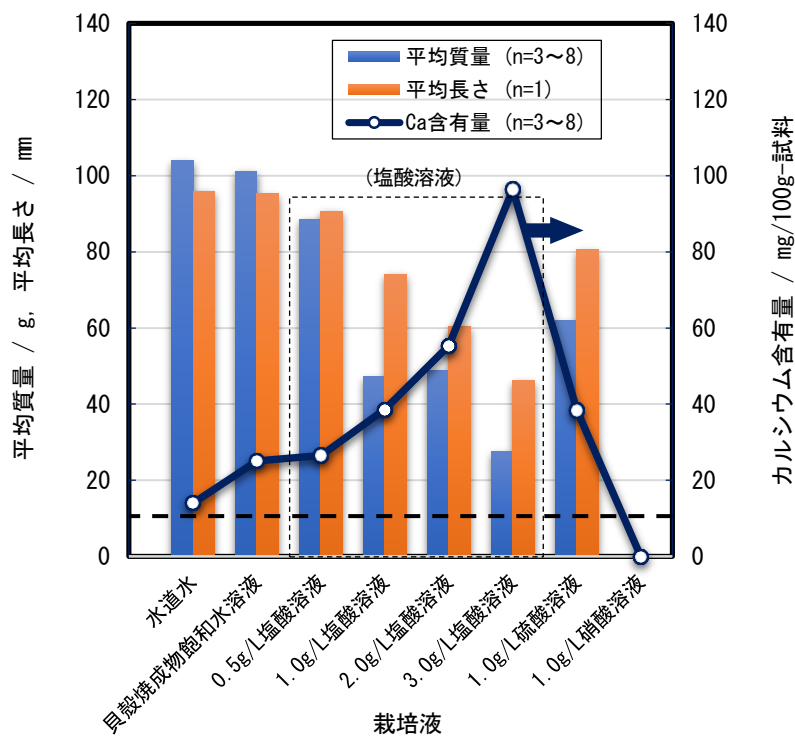


図7 様々な『栽培液』で栽培した緑豆もやしの平均質量，平均長さ，およびカルシウム含有量
 (グラフ下部の破線はカルシウム含有量の文献値⁶⁾)

水道水を基準としたときの緑豆もやしの平均質量 (■) および平均長さ (■) は，貝殻焼成物飽和水溶液ではほぼ同等，貝殻焼成物の塩酸溶液を用いたときでは溶液中の焼成物濃度と共に減少する傾向が見られた。硫酸溶液の場合は同濃度の塩酸溶液とほぼ同様な結果となったが，硝酸に溶かした場合には全く発芽せず，緑豆もやしは収穫できなかった。

水道水で栽培した緑豆もやしに含まれるカルシウム量は14.0mg/100g 試料 (n=8, RSD=11%) と，文献値 10mg/100g⁶⁾ に近い値であったが，貝殻焼成物飽和水溶液を用いると約 1.8 倍の 25.1mg/100g 試料 (n=8, RSD=5.5%) となった。塩酸を用いて栽培液中のカルシウム溶解量を増やすとそれにほぼ比例して試料中のカルシウム含有量も増加したが (最大 6.9 倍)，一方でもやし自体の収穫量や長さが著しく減少し (質量で約 1/4, 長さで約 1/2)，成長障害が認められた。これらの成長障害は，過度なカルシウム硬度の増加や，酸由来の塩化物イオン・硫酸イオン，中和剤由来のナトリウムイオン濃度の増加に起因すると推測されるが，詳細は不明である。

以上の結果から，ホタテ貝殻焼成物を溶解した各種栽培液を用いて緑豆もやしを栽培すると，カルシウム含有量が最大 6.9 倍まで増加することが確かめられたが，一方で栽培液中のカルシウム濃度が大きすぎると成長障害が生じることから，本条件下では，貝殻焼成物飽和水溶液を栽培液として用いる方法が最適であると結論づけられる。

3.2 カイワレ大根の栽培と分析

図 8 に、各栽培液を用いて収穫されたカイワレ大根の平均質量、平均長さ、および作物 100g 当たりのカルシウム含有量を示す。

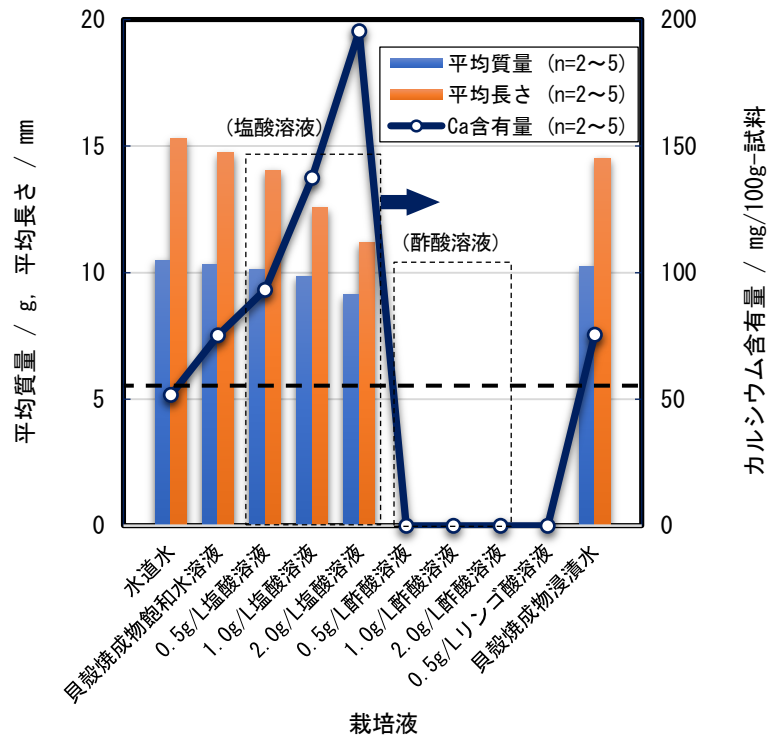


図 8 様々な『栽培液』で栽培したカイワレ大根の平均質量、平均長さ、およびカルシウム含有量
 (グラフ下部の破線はカルシウム含有量の文献値⁹⁾)

水道水を基準としたときのカイワレ大根の平均質量 (■) は、貝殻焼成物飽和水溶液ではほぼ同等であるが、貝殻焼成物の塩酸溶液を用いると焼成物濃度と共に減少し、平均長さ (■) はカルシウム含有量が多くなるほど短くなる傾向が顕著に認められた。栽培液として酢酸溶液やリンゴ酸溶液を用いた場合には、栽培過程において、酢酸カルシウムやリンゴ酸カルシウムと思われる白色結晶が栽培容器内壁や種子表面に析出してしまい、溶液濃度の如何によらず全ての種子が発芽しなかった (図 9)。

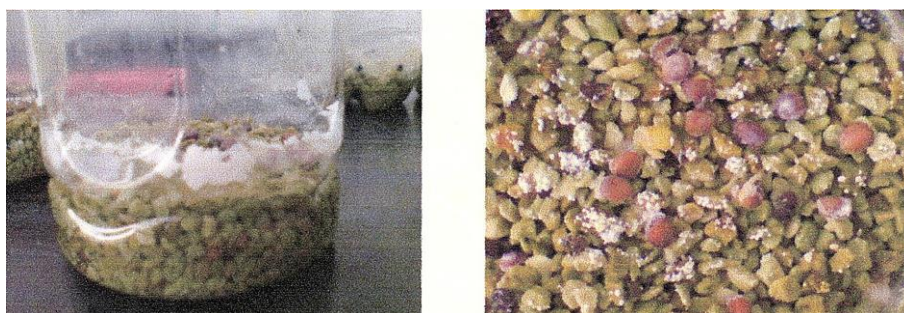


図 9 1.0g/L 酢酸溶液による栽培において容器内壁や種子表面に析出した白色結晶

水道水で栽培した場合のカイワレ大根に含まれるカルシウム量は $51.7\text{mg}/100\text{g}$ 試料 ($n=5$, $\text{RSD}=25\%$) と、文献値 $54\text{mg}/100\text{g}$ ⁶⁾ に近いであったが、貝殻焼成物飽和水溶液および貝殻焼成物浸漬水を用いると約1.5倍の $75.3\text{mg}/100\text{g}$ ($n=5$, $\text{RSD}=2.1\%$) となった。塩酸を用いて栽培液中のカルシウム溶解量を増やすとそれにほぼ比例して試料中のカルシウム含有量も増加したが(最大3.8倍)、一方で緑豆もやし同様、カイワレ大根自体の収穫量や長さが減少し(質量で約1/1.2, 長さで約1/1.4)、成長阻害が認められた。

以上の結果から、ホタテ貝殻焼成物を溶解した栽培液を用いるとカイワレ大根中のカルシウム含有量が最大3.8倍まで増加するが、栽培液中のカルシウム濃度が大きすぎると成長阻害が生じることや、栽培液調製操作の煩雑さを考慮すると、本条件下では、貝殻焼成物浸漬水が最適であると結論づけられる。

3.3 二十日大根の栽培と分析

図10に、各栽培液を用いて収穫された二十日大根の平均質量、および作物100g当たりのカルシウム含有量を示す。

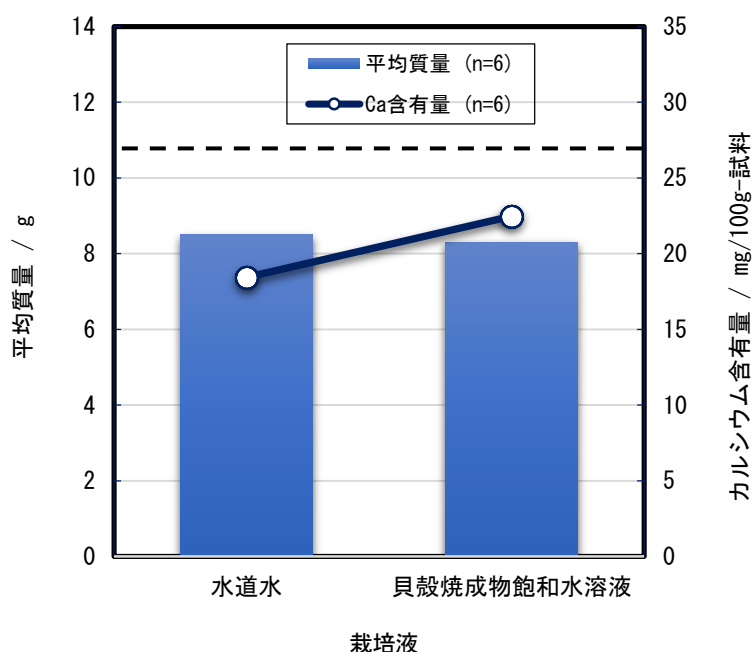


図10 水道水および貝殻焼成物飽和水溶液で栽培した二十日大根の平均質量、およびカルシウム含有量
 (グラフ中の破線はカルシウム含有量の文献値⁶⁾)

水道水で栽培した二十日大根中の平均カルシウム含有量は $18.4\text{mg}/100\text{g}$ -試料 ($n=6$, $\text{RSD}=12\%$) と、文献値 $21\text{mg}/100\text{g}$ 試料⁶⁾ よりやや少なかったが、これは栽培時に追肥を行わなかったことによるのかもしれない。栽培液として貝殻焼成物飽和水溶液を用いると大きな成長阻害もなく(水道水 8.5g , 貝殻焼成物飽和水溶液 8.3g)、カルシウム含有量は 22.5mg ($n=6$, $\text{RSD}=10\%$) と、約1.2倍に増加した。3.2カイワレ大根と同様、恐らく貝殻焼成物浸漬水を用いても同様の効果が期待され、貝殻焼成物を溶解させた栽培液を用いることで、土壌栽培作物に対しても有意なカルシウム強化効果が認められると結論できる。

4. 結 論

ホタテ貝殻焼成物を溶解して調製した種々の『栽培液』を用いて、水耕栽培作物（緑豆もやし・カイワレ大根）および土壌栽培作物（二十日大根）を栽培し、その収量や作物中のカルシウム濃度に及ぼす影響について検討したところ、以下の知見を得た。

(1) 緑豆もやし中のカルシウム含有量を最大 6.9 倍まで増加させることができたが、栽培液中のカルシウム濃度を過度に増加させると作物自体の成長阻害が生じるため、貝殻焼成物飽和水溶液での栽培（カルシウム強化効果約 1.8 倍）が最適であった。

(2) カイワレ大根に対しても最大 3.8 倍までカルシウム含有量を増加させることができたが、成長阻害や栽培液調製操作の煩雑さの観点から、貝殻焼成物浸漬水での栽培（強化効果約 1.5 倍）が最適であった。

(3) 土壌栽培作物である二十日大根を貝殻焼成物飽和水溶液を用いて栽培すると、大きな成長阻害もなくカルシウム含有量は約 1.2 倍に増加したことから、水耕栽培作物ほど顕著ではないが有意なカルシウム強化効果を示すことが確かめられた。

参 考 文 献

- 1) 古崎睦, 石田修二, 佐藤悠介, 寄谷明香, 佐々木基至: ホタテ貝殻入りコンクリートブロックの二酸化炭素吸収挙動, 旭川工業高等専門学校研究紀要, 51 : 27-35 (2014)
- 2) 古崎睦, 反橋俊介, 古木ほのか, 田口智恵, 桃井良拓, 大久保隆司: ホタテ貝殻を利用した新規「猫砂」材料の開発, 旭川工業高等専門学校研究紀要, 55,56 : 13-20 (2019)
- 3) 姉帯一樹: メタノール浸漬処理したホタテ貝殻焼成物によるバイオディーゼル燃料 (BDF) の合成 -生成 BDF の添加による反応促進効果-, 平成 30 年度旭川工業高等専門学校研究生研究業績報告書 (2019)
- 4) 例えば, 富山県 経営管理部 広報課 TJN 編集室: No.054-1 高カルシウムのエノキタケ登場で, キノコがさらにヘルシーに!, <http://www.toyama-brand.jp/TJN/?tid=103055>, 2019/4/20
- 5) 例えば, (一) ピロールジャパン: ピロール農法とシアノバクテリア, <https://www.pyrrol-j.or.jp/farming/>, 2019/4/20
- 6) 文部科学省 食品成分データベース, <https://fooddb.mext.go.jp>, 2019/4/20

【研究紹介】 *Cladosporium* spp. と *Aureobasidium* spp. に対する ラベンダー油の抗カビ活性の評価

富樫 巖 *

鈴木 夕湖 **

林 志門 **

Evaluation of inhibitory effects of a lavender-volatile oil on the growth of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp.

Iwao TOGASHI
Yuumi SUZUKI
Shimon HAYASHI

Abstract

We tested the inhibitory effects of a lavender oil on the growth of six strains of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp. using direct contact experiment based on an agar medium dilution method. The minimal inhibitory concentration (MIC) of the oil in two strains (*C. cladosporioides* NBRC 6348 and *A. pullulans* NBRC 6353) was 0.5% (v/v) at 25°C. MIC of the oil combined with 5% (v/v) ethanol was 0.1% (v/v) to five strains *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp. including NBRC 6348 and NBRC 6353. On the other hand, MIC of ethanol to the six strains was over 5% (v/v) at 25°C.

1. はじめに

我々の生活環境には多くの微生物が生息していることから、建築物の水廻り箇所や結露が生じた箇所にカビ汚染が生じる^{1,2)}。カビ汚染は材料の劣化、見た目の不潔さ、アレルギーとなることから一般的に有機系・無機系化合物からなる各種防カビ剤を用いた防除が行われる³⁾。しかし、消費者はそうした防カビ剤の利用による健康被害や事故を懸念し、安全・安心イメージの高い天然物系の利用を好む傾向がある²⁾。

著者らは、浴室に発現する *Cladosporium* spp. (クロカビ) や *Aureobasidium* spp. (黒色酵母) などの黒色真菌^{4,5)}の防除を目的として9種類の市販精油の抗カビ活性の評価を行い、ローズ油、ラベンダー油、ハッカ油の性能が高いことを報告した⁶⁾。そこで、ローズ油の詳細な抗カビ活性の評価^{7,8)}に引き続き、ラベンダー油の精査を試みた。北海道上川地域はラベンダーの産地であり、ラベンダー油を防カビ剤として活用することができれば地域産業の更なる活性化にも寄与できる可能性がある。

具体的には6菌株の黒色真菌(クロカビと黒色酵母)を供試し、寒天培地混濁法による接触実験系を用い、ラベンダー油単独での抗カビ活性の把握、およびラベンダー油とエタノールの混合物による抗カビ活

* 物質化学工学科嘱託教授

(2019年12月30日受理)

** 物質化学工学科卒業生

性の把握を試みた。

2. 実験方法

2.1 供試菌株と接種源

供試菌株には、クロカビとして *Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) de Vries の NBRC 4459 と NBRC 6348, 旭川高専保存株の *Cladosporium* spp. ANCT-11001 と ANCT-11002 の計 4 菌株, および黒色酵母として *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud NBRC 6353 と *Aureobasidium* sp. ANCT-11003 の計 2 菌株, 以上の合計 6 菌株を用いた。これらの供試菌株は, ポテトデキストロース寒天 (PDA) 平板培地で継代培養保存されていたものである。各試験に用いる場合には PDA 平板培地 (直径 90 mm, 以下同様) を用い, 25°C にて 2 週間 (NBRC 4459, NBRC 6353, ANCT-11003) または 3 週間 (NBRC 6348, ANCT-11001, ANCT-11002) の前培養を行った。そして, 成長した各コロニーからコルクボーラーを用いて寒天培地ごと打ち抜いた直径 5 mm の菌体ディスクを接種源として用いた。

2.2 供試材料

ラベンダー油はキシダ化学製 (化学用) を一連の実験に供試した。エタノールはキシダ化学製 (特級 99.5%) を用い, PDA 培地は日水製薬製を用いた。

2.3 抗カビ活性の評価

2.3.1 ラベンダー油およびエタノールの抗カビ活性

高圧蒸気殺菌 (121°C, 15 分) して 70°C 以下に放冷した PDA 培地に, 0.1, 0.3, 0.5, および 1.0 % (v/v) になるようにラベンダー油を添加した平板培地, さらに必要に応じて 1, 3, 5 % (v/v) になるようにエタノールを追加した各平板培地を作成した。また, 濃度が 1, 3, 5 % (v/v) になるようにエタノールのみを添加した平板培地も作成した。これらの平板培地の中央に 2.1 の菌体ディスクを各 1 個接種した後にパラフィルムでシャーレをシールし, 25°C で 10 日間培養して経時的に菌糸成長量 (コロニー半径), または目視により 10 日間培養後の平板培地表面のコロニー占有率 (%) を測定した。PDA のみの平板培地の菌糸成長量やコロニー占有率をコントロールとし, 反復数を 3 として同様の測定を 2 回繰り返した。

2.3.2 最小発育阻止濃度 (MIC) と最小殺カビ濃度 (MCC) の測定

2.3.1 で 10 日間培養後に菌糸成長が確認されなかったラベンダー油等の最低濃度を最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, 以下 MIC) とし, 菌糸成長がみられない各平板培地の菌体ディスクを新たな PDA 平板培地に再接種し, 25°C で 10 日間培養することで菌糸再生の有無を観察して菌糸成長が確認されなかったラベンダー油等の最低濃度を最小殺カビ濃度 (Minimum Cidal Concentration, 以下 MCC) とした。

2.4 培地 pH の測定

2.3 の各平板培地の pH については, 電子レンジで培地を加熱溶解し, 50°C 以下に冷却後に pH 電極を用

いて測定した。

3. 結果と考察

3.1 ラベンダー油の抗カビ活性

JIS Z 2911 かび抵抗性試験方法の第4群に指定される *C. cladosporioides* NBRC 6348 と *A. pullulans* NBRC 6353 を供試し、コントロールの PDA 平板培地とラベンダー油を 0.1~1.0%(v/v) 添加した PDA 平板培地で菌糸成長の経時変化を測定して得られた結果を図 1 に示す。両菌株共にラベンダー油の濃度上昇に従って菌糸成長が抑制された。0.1%(v/v) における 10 日間培養後の菌糸成長量がコントロールの 6 割前後まで低下し、NBRC 6348 で 0.3%(v/v) 以上、NBRC 6353 では 0.5%(v/v) 以上で菌糸成長がみられなかった。一方、ローズ油の MIC 値は両菌株共に 0.1%(v/v) であり^{7,8)}、供試菌株に対する MIC はラベンダー油が劣ることになる。また、ラベンダー油を 0.1~1.0%(v/v) 添加した PDA 培地の pH は 5.3~4.8、コントロールの pH は 5.4 であり、供試菌株の菌糸成長に対するラベンダー油の pH の影響は小さいと推察される。

3.2 ラベンダー油とエタノール混合物の抗カビ活性

一般的に防カビ剤の性能は MIC の値で評価される。3.1 から供試菌株に対するラベンダー油の MIC は供試菌株により 0.3~0.5%(v/v) となる。ラベンダー油を防カビ剤の主成分として利用する場合、その MIC はより小さい値であることが望ましい。そこで、ラベンダー油の添加濃度 0.1, 0.3, および 0.5%(v/v) に対し、エタノールの添加濃度 1, 3, および 5%(v/v) をそれぞれ組み合わせた混合物の抗カビ活性の評価を試みた。

供試した 6 菌株に対するラベンダー油とエタノール混合物の MIC の測定結果を表 1 に示す。ラベンダー油 0.1%(v/v) で 25°C・10 日間に渡って菌糸成長を阻止するにはエタノールの添加濃度が 5%(v/v) またはそれ以上必要であり、ラベンダー油 0.3%(v/v) ではエタノールの添加濃度が 1%(v/v) 程度~3%(v/v)、ラベンダー油 0.5%(v/v) ではエタノールの添加濃度が 1%(v/v) 程度必要となる。表 1 に示した各試験区の菌体ディスクについて新たな PDA 平板培地に移して培養したところ、NBRC 6348, NBRC 6353, ANCT-11001 については菌糸成長が生じた。一方、NBRC 4459 と ANCT-11003 ではラベンダー油 0.5%(v/v) + エタノール 5%(v/v)、ANCT-11002 ではラベンダー油 0.5%(v/v) + エタノール 1~5%(v/v) で菌糸成長が生じなかった(2.3.2 の MCC に該当する)。

表 2 には、濃度が 1~5%(v/v) のエタノール単独の抗カビ活性の測定結果を示す。エタノール濃度の増加によって供試菌株の菌糸成長量が減少するものの、5%(v/v) においても 25°C・10 日間に渡って菌糸成長を完全に抑え込むことはできなかった。従って、表 1 に示した抗カビ活性はラベンダー油とエタノールの相乗効果となる。一般的な消毒用エタノールは、微生物に対する殺菌効果が最も高い濃度とされる 70%(v/v) 前後の高濃度水溶液である。高濃度エタノールは微生物の細胞表面のタンパク質を急激に変性させ、種々の機能障害を引き起こして瞬時に殺菌する。一方、数%の低濃度のエタノールは殺菌力が弱い微生物細胞中に浸透して徐々に細胞内のタンパク質や酵素の働きを阻害⁹⁾して静菌作用を示すことが報告¹⁰⁾されている。

3.3 まとめ

寒天培地拡散法による接触実験系を用いて6菌株の黒色真菌 (*Cladosporium* spp.と *Aureobasidium* spp.) の菌糸成長に対するラベンダー油単独, およびラベンダー油とエタノールの混合物の各阻害効果を観察した。その結果, JIS Z 2911 かび抵抗性試験方法に指定される *C. cladosporioides* NBRC 6348 と *A. pullulans* NBRC 6353 の2菌株に対するラベンダー油単独の MIC は 25°C で 0.5% (v/v) となった。一方, 5% (v/v) エタノールとの組合せでは, NBRC 6348 と NBRC 63535 を含む5菌株 (ANCT-11001 を除く) に対するラベンダー油の MIC は 0.1% (v/v) まで改善した。全供試菌株 (6 菌株) に対するエタノールのみ MIC は 25°C で 5% (v/v) を超えていることから, ラベンダー油単独よりも低濃度のエタノールとの混合物とすることで黒色真菌の防除や発生予防対応がより効果的になると考える。

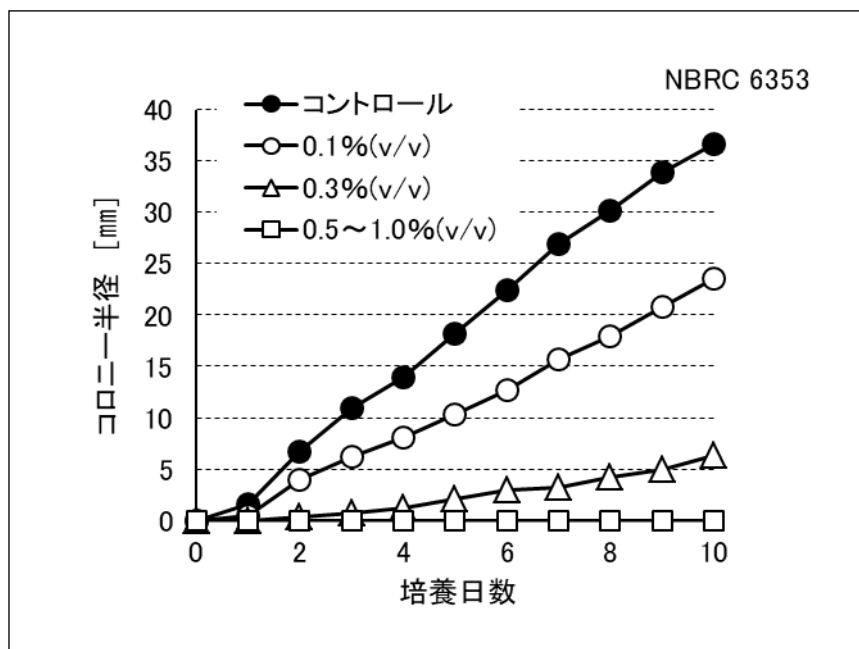
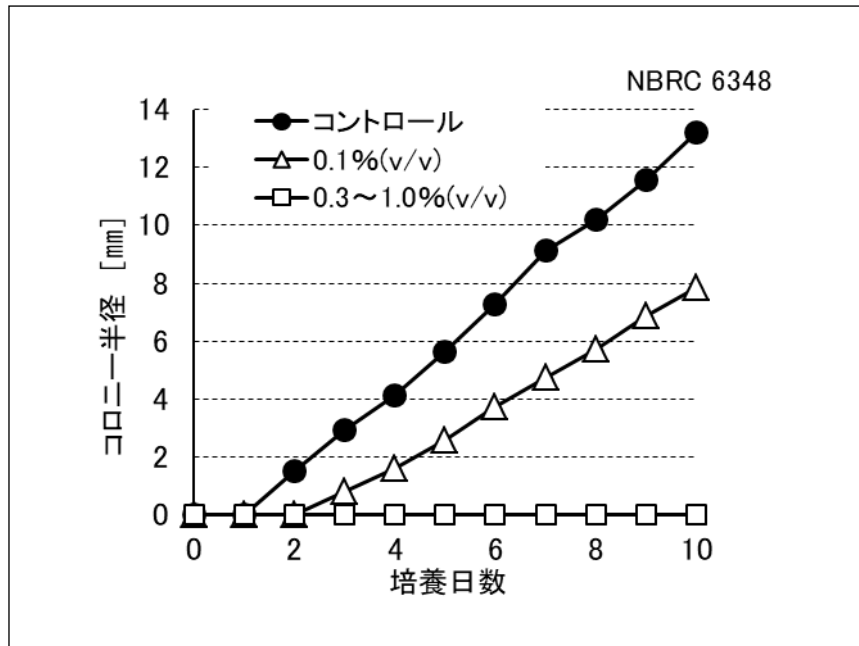


図1 *Cladosporium cladosporioides* NBRC 6348 (上) と *Aureobasidium pullulans* NBRC 6353 (下) の菌糸成長に対するラベンダー油 (0.1~1.0%(v/v)) の阻害効果 (25°C, 接触実験系)

注) 直径 90 mm の PDA 平板培地使用, 反復数 3

表 1 供試菌株の菌系成長に対するラベンダー油とエタノール混合物の最小発育阻止濃度 MIC (25°C・10 日間培養, 接触実験系)

供試菌株	試験区	ラベンダー油 + エタノール混合物の 最小発育阻止濃度 (%(v/v))	
		ラベンダー油	エタノール
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459		0.1	5
		0.3	3
		0.5	≤ 1
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348		0.1	5
		0.3	3
		0.5	≤ 1
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353		0.1	5
		0.3	≤ 1
		0.5	≤ 1
<i>Cladosporium</i> spp. ANCT-11001		0.1	> 5
		0.3	5
		0.5	≤ 1
<i>Cladosporium</i> spp. ANCT-11002		0.1	5
		0.3	≤ 1
		0.5	≤ 1
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT-11003		0.1	5
		0.3	3
		0.5	≤ 1

注) 直径 90 mm の PDA 平板培地使用, 反復数 3

表 2 供試菌株の菌系成長 (平板培地表面のコロニー占有率^{a)}) に対するエタノール単独の阻害効果 (25°C・10 日間培養, 接触実験系)

供試菌株	試験区	コロニー占有率 ^{a)}			
		コントロール	エタノール濃度 (%(v/v))		
			1	3	5
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459		++++	++++	++	+
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348		++	++	+	±
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353		++++	++++	+	±
<i>Cladosporium</i> spp. ANCT-11001		+++	++	++	+
<i>Cladosporium</i> spp. ANCT-11002		+++	+++	++	+
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT-11003		++++	+++	+	±

a) +++++ : 75%以上, +++ : 50%以上 75%未満, ++ : 25%以上 50%未満, + : 5%以上 20%未満, ± : 5%未満,
 - : 成長なし

注) 表 1 と同じ

参 考 文 献

- 1) 倉田浩, 倉澤喜久雄: 住宅環境とカビ, 化学工業, 48(11): 874-881(1997)
- 2) 菅原文子: 住宅環境におけるカビの生態1)住居, 防菌防黴, 25(12): 719-725(1997)
- 3) 氏家昌行, 長谷川誓, 岡本明, 諸角聖, 一言広: 市販の塩素系防カビ剤, アルコール系殺菌剤およびカビ防止剤の真菌防除効果, 防菌防黴, 17(10): 473-481(1989)
- 4) 濱田信夫: 浴室の微生物汚染の現状と対策, 防菌防黴, 34(2): 81-88(2006)
- 5) 高鳥浩介, 李憲俊: 暮らしと微生物 13 浴室, 防菌防黴, 40(3): 161-171(2012)
- 6) 佐藤明日香, 富樫巖: 生活環境にみられるカビの防除—精油の防カビ性能—, 化学系学会協会北海道支部2011年冬季研究発表会講演要旨集: 136(2011)
- 7) 富樫巖, 佐藤明日香: 黒色真菌 (*Cladosporium* spp., *Aureobasidium* spp.) に対するローズ油の生育阻害効果, 日本菌学会会報, 54(1): 32-37(2013)
- 8) 富樫巖, 佐藤明日香: *Cladosporium* spp.と*Aureobasidium* spp.の生育に及ぼすローズ油の阻害効果, 旭川工業高等専門学校研究報文, No.51: 8-15(2014)
- 9) 高麗寛紀, 河野雅弘, 野原一子: わかりやすい殺菌・抗菌の基礎知識, オーム社, 91-95(2000)
- 10) 山下勝: アルコール類の微生物に対する作用, 防菌防黴, 24(3): 195-219(1996)

【研究紹介】 *Cladosporium* spp. と *Aureobasidium* spp. に対する ラベンダー蒸留水の抗カビ活性の評価

富樫 巖 *

早川 恭世 **

鈴木 夕湖 **

Evaluation of inhibitory effects of a lavender-floral water on the growth of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp.

Iwao TOGASHI
Masayo HAYAKAWA
Yuumi SUZUKI

Abstract

We tested the inhibitory effects of a lavender-floral water on the growth of six strains of *Cladosporium* spp. and *Aureobasidium* spp. using direct contact and vapor contact experiments based on an agar medium dilution method. Fifty percents (v/v) of the lavender-floral water of the two experiments were not able to inhibit the growth of all strains at 25°C. On the other hand, Fifty per cents (v/v) of the water combined with 5% (v/v) ethanol using direct contact experiment prevented the growth of three strains (*C. cladosporioides* NBRC 6348, *A. pullulans* NBRC 6353 and *Cladosporium* sp. ANCT-11002) for 10 days at 25°C.

1. はじめに

我々の生活環境には多くの微生物が生息していることから、建築物の水廻り箇所や結露が生じた箇所にカビ汚染が生じる^{1,2)}。カビ汚染は材料の劣化、見た目の不潔さ、アレルギーとなることから一般的に有機系・無機系化合物からなる各種防カビ剤を用いた防除が行われる³⁾。しかし、消費者はそうした防カビ剤の利用による健康被害や事故を懸念し、安全・安心イメージの高い天然物系の利用を好む傾向がある²⁾。

著者らは、浴室に発現する *Cladosporium* spp. (クロカビ) や *Aureobasidium* spp. (黒色酵母) などの黒色真菌^{4,5)}の防除を目的としたラベンダー精油の利用可能性を報告した^{6,7)}。北海道上川地域は観光用のラベンダー栽培地であると同時に、観光農園ではラベンダー精油を回収・利用することでコスメ類などの製品を開発・販売している。精油の回収には水蒸気蒸留装置を用いていることから、精油に加えて大量のフローラルウォーターが副生する。そこで、同ウォーターは「ラベンダー蒸留水」として入浴剤や化粧水として商品化されている。

フローラルウォーターには少量の精油やその成分が分散または溶解している。ラベンダー油には黒色真

* 物質化学工学科嘱託教授

(2019年12月30日受理)

** 物質化学工学科卒業生

菌に対する抗カビ活性が認められたことで^{6,7)}、ラベンダー蒸留水にも同活性が期待できる。本研究ではラベンダー蒸留水の新規性能を見出すことで利活用の拡大に繋がることを期待し、寒天培地混釈法による接触実験系と非接触実験系を用いたラベンダー蒸留水単独およびラベンダー蒸留水とエタノール混合物の黒色真菌に対する抗カビ活性の評価を試みた。

2. 実験方法

2.1 供試菌株と接種源

供試菌株には、クロカビとして*Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) de Vries NBRC 4459とNBRC 6348, 旭川高専保存株の*Cladosporium* spp. ANCT-11001 とANCT-11002の計4 菌株, および黒色酵母として*Aureobasidium pullulans* (de Bary)Arnaud NBRC 6353と*Aureobasidium* sp. ANCT-11003 の計2 菌株, 以上の合計6菌株を用いた。これらの菌株はポテトデキストロース寒天 (PDA) 平板培地で継代培養保存されていたものである。各試験に用いる場合にはPDA 平板培地 (直径90 mm, 以下同様) を用い, 25°Cにて2週間 (NBRC 4459, NBRC 6353, ANCT-11003) または3週間 (NBRC 6348, ANCT-11001, ANCT-11002) の前培養を行った。そして, 成長した各コロニーからコルクボーラーを用いて寒天培地ごと打ち抜いた直径5 mm の菌体ディスクを接種源として用いた。

2.2 供試材料

ラベンダー蒸留水にはファーム富田 (北海道空知郡中富良野町) 製を供試した。エタノールはキシダ化学製 (特級 99.5%), PDA 培地は日水製薬製, および寒天粉末は和光純薬工業製 (細菌培地用) を用いた。

2.3 抗カビ活性の評価

2.3.1 接触実験系によるラベンダー蒸留水およびエタノールの抗カビ活性

高圧蒸気殺菌 (121°C, 15 分) して 70°C以下に放冷した PDA 培地に, 25 および 50 % (v/v) になるようにラベンダー蒸留水を添加した平板培地, 必要に応じて 3 または 5% (v/v) になるようにエタノールを追加した各平板培地を作成した。また, 濃度が 3 または 5% (v/v) になるようにエタノールのみを添加した PDA 平板培地も作成した。これらの平板培地の中央に 2.1 の菌体ディスクを各 1 個接種した後にパラフィルムでシャーレをシールし, 25°Cで 10 日間培養して経時的に菌糸成長量 (コロニー半径), または目視により 10 日間培養後の平板培地表面のコロニー占有率 (%) を測定した。PDA のみの平板培地の菌糸成長量やコロニー占有率をコントロール, 反復数を 3 として同様の測定を 2 回繰り返した。

2.3.2 非接触実験系によるラベンダー蒸留水およびエタノールの抗カビ活性

高圧蒸気殺菌した寒天濃度が 1.5% (w/v) の素寒天培地に, 50 % (v/v) になるようにラベンダー蒸留水を添加して作成した平板培地, 必要に応じて 3 または 5% (v/v) になるようにエタノールを追加した各素寒天平板培地を作成した。また, 通常の PDA 平板培地の中央に供試菌株の菌体ディスクを接種した後, 上述の各素寒天平板培地と重ね合わせてビニルテープで密閉した。供試菌株を接種した PDA 平板培地と素寒天平板培地を重ねて密閉したものをコントロールとし, 2.3.1 と同様に 25°Cで培養を行って菌糸成長量やコロニー

占有率を測定した。なお、いずれも反復数を3とした。

2.3.3 ラベンダー蒸留水の精油濃度の測定

ラベンダー蒸留水 300ml を精油定量装置（第15改正日本薬局方準処）に入れ、電気ヒーター(60~70V) で60分間蒸留を行うことで精油含有量を測定した。

2.4 培地 pH の測定

2.3の各平板培地を電子レンジで培地を加熱溶解し、50℃以下に冷却後に pH 電極を用いて測定した。

3. 結果と考察

3.1 ラベンダー蒸留水の抗カビ活性

3.1.1 ラベンダー蒸留水の抗カビ活性（接触実験系）

JIS Z 2911 かび抵抗性試験方法の第4群に指定される *C. cladosporioides* NBRC 6348 と *A. pullulans* NBRC 6353 を供試し、接触実験系を用いて測定したラベンダー蒸留水単独の菌糸成長の経時変化を図1に示す。コントロールのPDA平板培地と比較するとラベンダー蒸留水の添加によって両菌株の菌糸成長が抑制される傾向がみられたものの、菌糸成長が完全に阻害されることはなかった。一方、NBRC 6353 では25%(v/v) 濃度のラベンダー蒸留水とコントロールには差異がなかった。

全供試菌株に対する50%(v/v) ラベンダー蒸留水のコロニー占有率を表1に示す。菌糸成長が完全に阻害された供試菌株はなく、ラベンダー蒸留水によってコロニー占有率が低下した菌株とコントロールと差異がない菌株がみられた。以上からラベンダー蒸留水単独の抗カビ活性は低いと判断された。

3.1.2 ラベンダー蒸留水の抗カビ活性（非接触実験系）

2.3.2に示した非接触実験系を用いて測定した50%(v/v) ラベンダー蒸留水のコロニー占有率を表2に示す。非接触実験系の抗カビ活性は表1の接触実験系の結果とほぼ同じで、ラベンダー蒸留水によってコロニー占有率が低下した菌株とコントロールと差がない菌株がみられた。なお、表1と表2のコントロールにおいてコロニー占有率が異なったのは、パラフィルムとビニルテープの通気性能の影響と推察される。後者の同性能が低いために、好気性の供試菌株の菌糸成長が抑制されものと考察される。以上からもラベンダー蒸留水単独の抗カビ活性は低いと判断された。

3.2 ラベンダー蒸留水とエタノール混合系の抗カビ活性

3.2.1 ラベンダー蒸留水とエタノール混合系の抗カビ活性（接触実験系）

ラベンダー蒸留水単独での抗カビ活性の低さを補うため、低濃度（3~5%(v/v)）のエタノールとの混合物の性能評価を試みた。最初に、エタノールのみを3または5%(v/v) 濃度としたPDA平板培地における全菌株のコロニー占有率を測定し、得られた結果を表3に示す。5%(v/v) エタノールでも培養期間の10日間に渡って全供試菌株の菌糸成長を完全に抑えることはできなかった。なお、エタノール添加によって僅かに培地 pH が上昇した（表3の欄外参照）。

50%(v/v) ラベンダー蒸留水に加え、エタノールを3または5%(v/v) 濃度とした PDA 平板培地における全菌株のコロニー占有率の結果を表4に示す。50%(v/v) ラベンダー蒸留水とエタノールの混合物ではエタノールの濃度上昇に従って全供試菌株の菌糸成長が低下し、菌糸成長が完全に停止した試験区もみられた。図1や表1に示したラベンダー蒸留水単独の抗カビ活性と比べ、エタノールを添加した効果が顕著に表れた。一方、NBRC 4459, ANCT-11001, および ANCT-11003 では、50%(v/v) ラベンダー蒸留水+5%(v/v) エタノールにおいても僅かな菌糸成長が生じた。

表3に示したように、5%(v/v) エタノールでは培養期間の10日間に渡って全供試菌株の菌糸成長を完全に抑えることはできなかったことから、ラベンダー蒸留水とエタノール混合物の抗カビ活性は両者の効果が相乗的に働いたと考察される。しかし、NBRC 4459 と ANCT-11003 では、50%(v/v) ラベンダー蒸留水+5%(v/v) エタノールのコロニー占有率と5%(v/v) エタノール単独のコロニー占有率の結果が同じであり、エタノールによる抗カビ活性が支配的と考えられる。一般的に用いられる消毒用エタノールは、微生物に対する殺菌効果が最も高い濃度とされる70%(v/v) 前後の高濃度水溶液である。高濃度エタノールは微生物の細胞表面のタンパク質を急激に変性させ、種々の機能障害を引き起こして瞬時に殺菌する。一方、数%の低濃度のエタノールは殺菌力が弱い微生物細胞中に浸透して徐々に細胞内のタンパク質や酵素の働きを阻害⁸⁾して静菌作用を示すことが報告⁹⁾されている。

3.2.2 ラベンダー蒸留水とエタノール混合系の抗カビ活性（非接触実験系）

非接触実験系で測定した、50%(v/v) ラベンダー蒸留水と3または5%(v/v) エタノールの混合物の抗カビ活性（全菌株のコロニー占有率）の結果を表5に示す。3.2.1の接触実験系の場合と同様に、ラベンダー蒸留水とエタノールの両抗カビ活性の相乗効果がみられ菌株と、エタノールの抗カビ活性にほぼ支配されたと考えられる菌株があった。NBRC 6348 以外の供試菌株の菌糸成長を抑えることはできなかったことから、接触実験系よりも非接触実験系における両者の組み合わせ効果は小さいと判断できる。

3.3 まとめ

フローラルウォーターには少量の精油やその成分が分散または溶解していることから、ラベンダー蒸留水中の精油成分濃度の測定を試みたところ、その回収率は0.02%(v/v) 弱と僅かであった。前報告^{6,7)}で示したように、黒色真菌に対するラベンダー精油 MIC である0.5%(v/v)に遠く及ばないにも拘らず、以上に述べたように供試菌株に対して一定の抗カビ活性を示した。この抗カビ活性を支える要因としては、ラベンダー蒸留水 pH の低さ（pH 電極にて測定した pH(25°C)=3.8）から抗菌活性や抗カビ活性を有する有機酸¹⁰⁾が含まれている可能性が考えられる。この詳細については今後の検討課題としたい。

ラベンダーからラベンダー精油を回収する際に副生するラベンダー蒸留水の高付加価値化を狙い、同蒸留水の黒色真菌に対する抗カビ活性の評価を試みた。ラベンダー蒸留水の利用濃度を最大で50%(v/v)としたものの、全供試菌株に対する最小発育阻止濃度 MIC (Minimum Inhibitory Concentration) の決定には至らなかった。ラベンダー蒸留水の濃度向上も考えられたが、3~5%(v/v) エタノールとの混合効果を検討した結果、5%(v/v) エタノールとの共存下において接触実験系では6菌株中3菌株、非接触実験系では同1菌株の生育を完全に停止させることが出来た。ラベンダー蒸留水単独で黒色真菌の防除は難しいが、低濃度のエタノールとの混合物とすることでその発生予防に利用可能性があると考えられる。

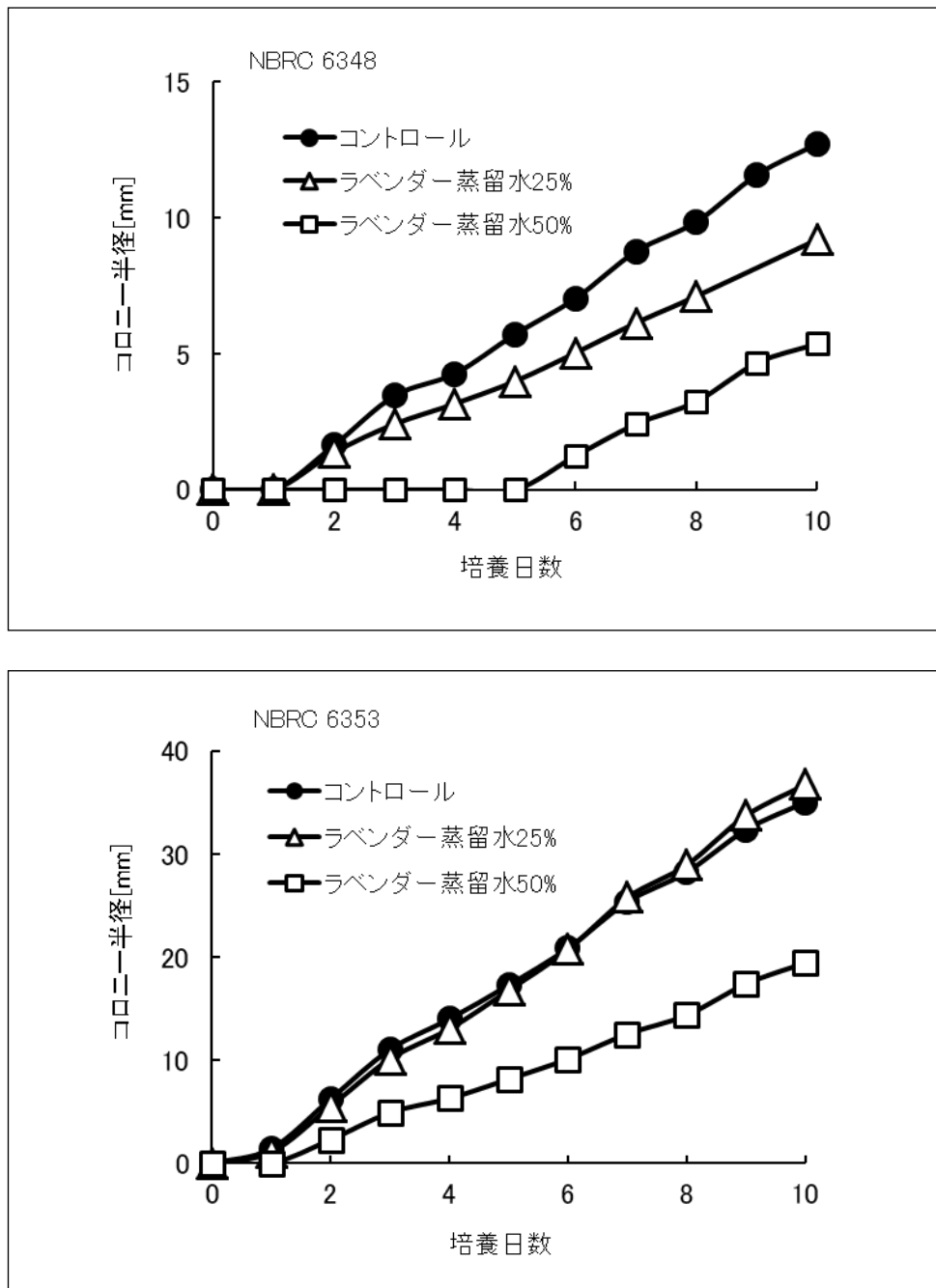


図1 *Cladosporium cladosporioides* NBRC 6348 (上) と *Aureobasidium pullulans* NBRC 6353 (下) の菌糸成長に対するラベンダー蒸留水 (25~50%(v/v)) の阻害効果 (25°C, 接触実験系)

注) 直径 90 mm の PDA 平板培地使用, 反復数 3

表1 供試菌株の菌糸成長（平板培地表面のコロニー占有率^{a)}）に対するラベンダー蒸留水の阻害効果（25℃・10日間培養，接触実験系）

供試菌株	試験区	
	コントロール	コロニー占有率 ^{a)} ラベンダー蒸留水 50%(v/v)
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459	++++	++
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348	++	+
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353	++++	++
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT.-11001	+++	++
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT-11002	+++	++
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT-11003	++++	++++

a) +++++ : 75%以上, +++ : 75%以上 75%未満, ++ : 25%以上 50%未満, + : 5%以上 20%未満, ± : 5%未満, - : 成長なし,

注) 直径 90 mm の PDA 平板培地使用 ; 反復数 3 ; コントロール培地 pH=5.4, ラベンダー蒸留水添加培地 pH=4.8

表2 供試菌株の菌糸成長（平板培地表面のコロニー占有率^{a)}）に対するラベンダー蒸留水の阻害効果（25℃・10日間培養，非接触実験系）

供試菌株	試験区	
	コントロール	コロニー占有率 ^{a)} ラベンダー蒸留水 50%(v/v)
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459	+++	++
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348	+	+
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353	++++	++
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11001	++	+
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11002	+++	++
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT 11003	+++	++

a) 表1と同じ,

注) 直径 90 mm の PDA 平板培地と素寒天培地使用 ; 反復数 3

表 3 供試菌株の菌糸成長（平板培地表面のコロニー占有率^{a)}）に対するエタノール単独の阻害効果（25℃・10 日間培養，接触実験系）

供試菌株	試験区	コロニー占有率 ^{a)}		
		コントロール	エタノール 3%	エタノール 5%
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459		++++	+	+
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348		++	+	±
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353		++++	+	±
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11001		+++	++	+
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11002		+++	++	+
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT 11003		++++	+	±

a) 表 1 と同じ，

注) PDA 平板培地使用；反復数 3；コントロール培地 pH=5.4，エタノール 3%添加培地 pH=5.4，エタノール 5%添加培地 pH=5.5

表 4 供試菌株の菌糸成長（平板培地表面のコロニー占有率^{a)}）に対する 50%(v/v) ラベンダー蒸留水とエタノール混合物の阻害効果（25℃・10 日間培養，接触実験系）

供試菌株	試験区 ^{b)}	コロニー占有率 ^{a)}		
		コントロール	エタノール 3%(v/v)	エタノール 5%(v/v)
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459		++++	+	+
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348		++	-	-
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353		++++	±	-
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11001		+++	+	±
<i>Cladosporium</i> sp. ANCT 11002		+++	+	-
<i>Aureobasidium</i> sp. ANCT 11003		++++	+	±

a) 表 1 と同じ，

注) PDA 平板培地使用；反復数 3；コントロール培地 pH=5.4，ラベンダー蒸留水とエタノール 3%添加培地 pH=5.0，ラベンダー蒸留水とエタノール 5%添加培地 pH=5.1

表5 供試菌株の菌糸成長（平板培地表面のコロニー占有率^{a)}）に対する50%(v/v)ラベンダー蒸留水とエタノール混合物の阻害効果（25℃・10日間培養，非接触実験系）

供試菌株	試験区 ^{b)}	コロニー占有率 ^{a)}		
		コントロール	エタノール 3%(v/v)	エタノール 5%(v/v)
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 4459		+++	+	+
<i>C. cladosporioides</i> NBRC 6348		+	+	-
<i>A. pullulans</i> NBRC 6353		++++	+	±
<i>Cladosporium sp.</i> ANCT 11001		++	+	+
<i>Cladosporium sp.</i> ANCT 11002		+++	++	++
<i>Aureobasidium sp.</i> ANCT 11003		+++	+	±

a) 表1と同じ，

注) 表2と同じ

参 考 文 献

- 1) 倉田浩，倉澤喜久雄：住宅環境とカビ，化学工業，48(11)：874-881(1997)
- 2) 菅原文子：住宅環境におけるカビの生態1)住居，防菌防黴，25(12)：719-725(1997)
- 3) 氏家昌行，長谷川誓，岡本明，諸角聖，一言広：市販の塩素系防カビ剤，アルコール系殺菌剤およびカビ防止剤の真菌防除効果，防菌防黴，17(10)：473-481(1989)
- 4) 濱田信夫：浴室の微生物汚染の現状と対策，防菌防黴，34(2)：81-88(2006)
- 5) 高鳥浩介，李憲俊：くらしと微生物 13 浴室，防菌防黴，40(3)：161-171(2012)
- 6) 富樫巖，鈴木夕湖，高橋いくり，高橋桃子，高田恵多，林志門：黒色真菌（*Cladosporium* spp., *Aureobasidium* spp.）に対するラベンダー油の抗カビ活性評価—水分活性とエタノールの組み合わせ効果—，日本菌学会会報，59(2)：53-59(2018)
- 7) 富樫巖，鈴木夕湖，林志門：*Cladosporium* spp.と*Aureobasidium* spp.に対するラベンダー油の抗カビ活性の評価，旭川工業高等専門学校研究報文，No.57：印刷中(2020)
- 8) 高麗寛紀，河野雅弘，野原一子：わかりやすい殺菌・抗菌の基礎知識，オーム社，91-95(2000)
- 9) 山下勝：アルコール類の微生物に対する作用，防菌防黴，24(3)：195-219(1996)
- 10) 山本泰，東和男，好井久雄：有機酸の抗菌性，日本食品工業会誌，31(8)：525-530

学生用実習教材の開発

江口 篤史*

Development of practical training materials for students

Atsushi EGUCHI

Abstract

The theme of the 2M machine production training has been improved to a theme that allows cooperation between different occupations. The theme was "Oscillating Engine", and it was developed to be a teaching material by modifying a commercial kit.

1. はじめに

以前の本校機械システム工学科2年生での「機械製作実習」では、週1回3時限、1クラス5班展開で年間30週（初回オリエンテーション1回、工場見学1回を含む）をかけて、7職種（旋盤、フライス盤、NC旋盤、NCフライス盤、溶接、鋳造・研削・粗さ試験、基礎加工）×4週間の班展開での実習を行っていた。しかし、要素作業がメインとなっており、各職種間の連携という点においては一部を除いて不足していたため、新規内容への変更を検討した。そこで、新しい内容では職種間での連携が取れ、現在各職種で行っている要素作業を極力変えないような内容を検討することとした。

2. 実習テーマの選定

テーマの選定を行うにあたり、以下の点について考慮することとした。

- ① 1年間を通して、各個人で全ての部品加工を行うこと。
- ② 加工を行う上での図面の読み方、加工精度の重要性を認識できること。
- ③ 各個人で加工したものを組み立て、調整を行うこと。
- ④ 個別性能試験の実施が可能であること。
- ⑤ 安全な性能試験時が可能であること。

以上のような内容を目標に、新しいテーマの検討を行うところから始めた。

* 技術創造部技術専門職員

実習を行う班展開の中では、それぞれの職種の作業に見合った部品の加工を行い、最後の班展開で組み立て・性能試験が行えるものとしていくつかの候補を考案し、これらに関する文献やWEB情報等を調査した結果、構造がシンプルであり、実際に組み立ててからの動作確認も容易と考えられ、稼働時の危険性も少ない「オシレーティングエンジン」(首振りエンジン、揺動エンジンとも呼ばれる)が学生実習のテーマとして最適であると考えた。

2.1 オシレーティングエンジンとは

オシレーティングエンジンは、かつて蒸気機関の小型船舶用として広く利用されていたもので、ピストンの往復運動と同時にシリンダーも左右に動く構造になっている。ピストンと一緒にシリンダーまでが動くため、効率は良くないが、構造が簡単である。

3. 試作機について

3.1 試作機の製作

試作機を製作するにあたり、市販品の組立キット(メガケム社製 揺動スチームエンジン #2A)¹⁾を購入し、構造および機構設計の参考とした。図1に市販キットの完成図を示す。

今回購入したメガケム社の揺動スチームエンジンはアメリカ製であるため、サイズはインチ表記、組立図等の説明文も英文表記のものであった。図2に市販キットの組立図を示す。

試作機を製作するにあたり、実習時間内に学生が加工できるように形状の簡略化や、加工性を考慮してインチ寸法をミリ寸法へと変更するとともに、約1.5倍のスケールアップを行った。



図1 市販キットの完成図

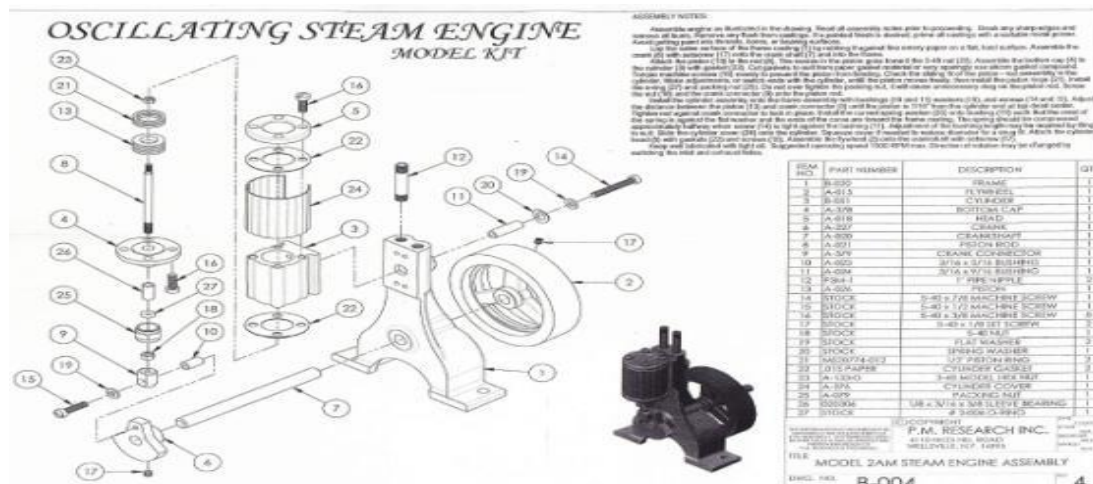


図2 市販キットの組立図

製作図面は3次元CADのソリッドワークスで作成し、干渉部などの確認を行った。また、学生実習での加工を想定しているため、加工時間の確認や加工工程のチェックも行いながら試作機を製作した。図3に作成したCAD図面、図4に試作機（市販キットと対比）を示す。

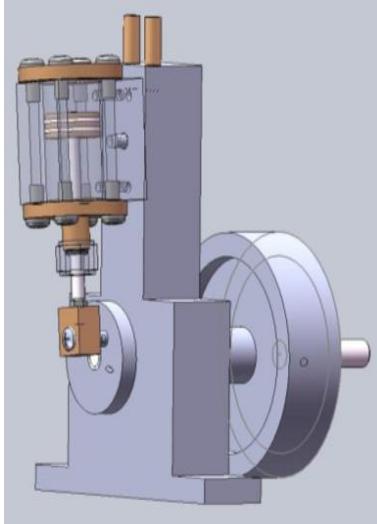


図3 試作機完成 CAD 図



図4 市販キット（左）と本試作機（右）の対比

3.2 試作機の改良

図4に示す1.5倍スケールモデルを試作し、実際の加工時間を算出したところ、加工時間が予想以上にかかることを見込まれた。そこで、市販キット程度にスケールダウンしたものと設計変更を行なった。サイズの変更に伴い、部品の変更や一部改良を行った。図5～図8に改良した試作機のCAD図面を示す。

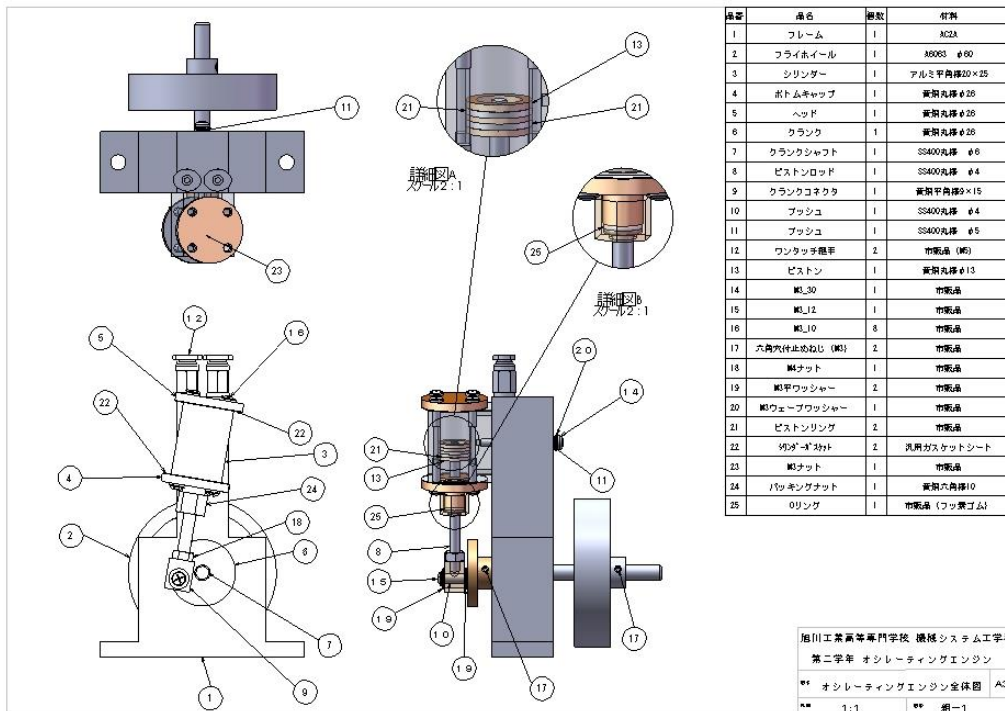


図5 改良型試作機 CAD 全体図

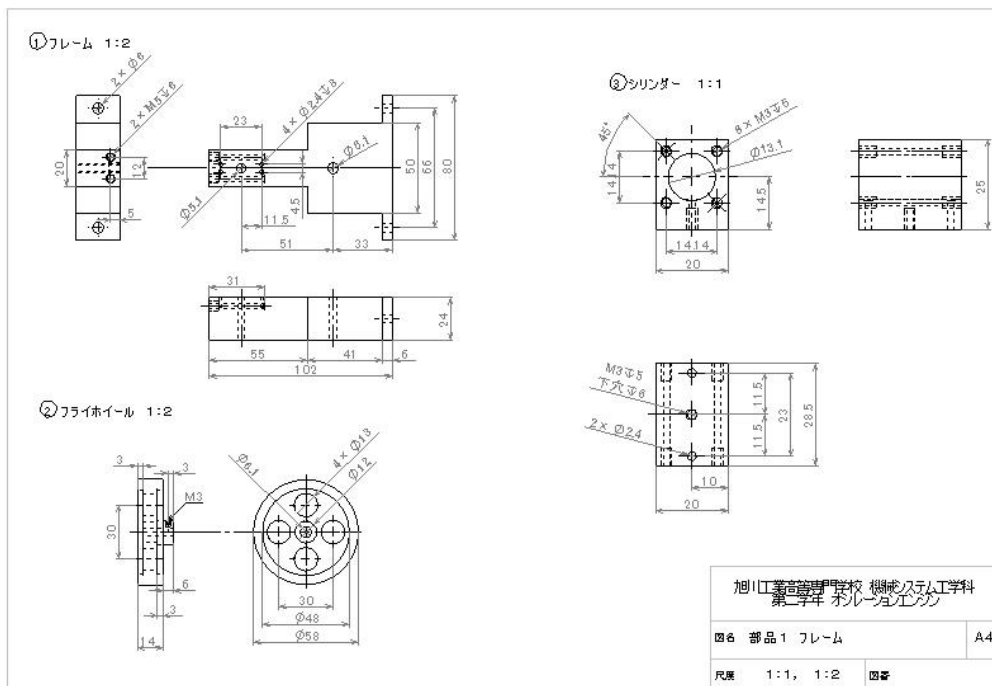


図6 部品図 (部品1～3)

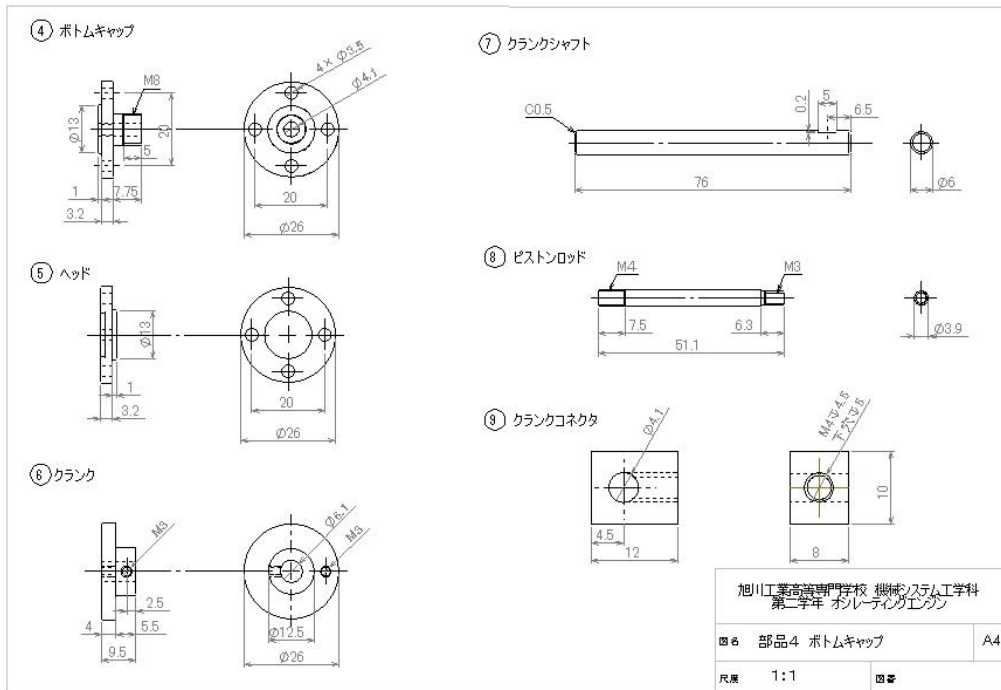


図7 部品図 (部品4～9)

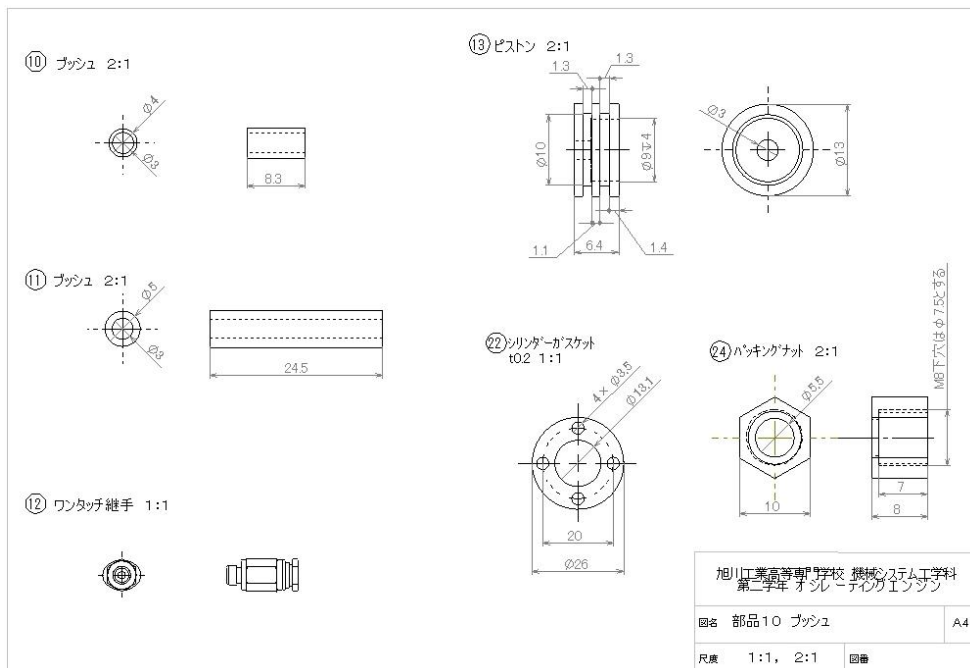


図8 部品図 (部品10～24一部省略)

主な改良点は、次の2点である。

- ① 図6②部品のフライホイールの軽量化
- ② 吸・排気口の部品変更 (図8⑫部品)

改良型の試作機が完成し、加工時間の検証や作業工程の見直し、動作確認を行った結果、市販キットに遜色ないレベルに改善された。また、製作コストの面でも市販キットに比べて約5分の1に抑えることが出来た。図9に改良型試作機CAD図、図10に改良後の試作機を示す。

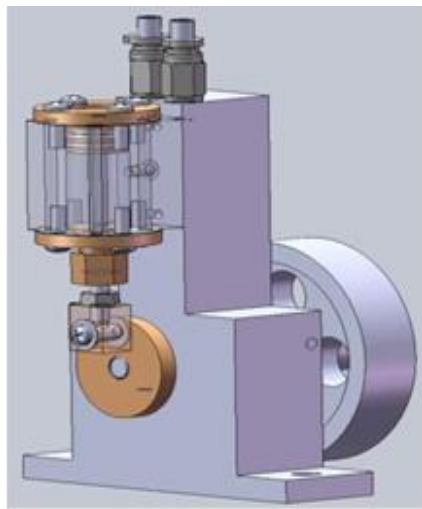


図9 改良型試作機CAD図

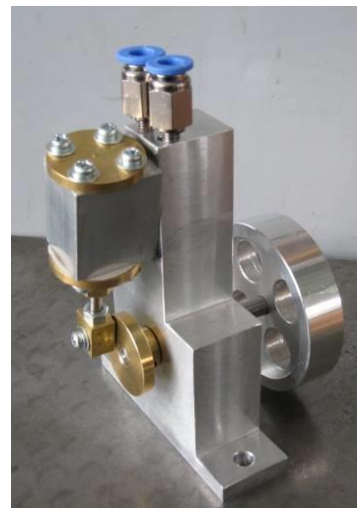


図10 改良型試作機

今回製作した試作機のコストを、以下の表1に示す。

表1 試作機の製作コスト

部品名	材質	規格	一台単価
フレーム	AC2A	約6キロ	¥474
フライホイール	A6063	φ60	¥200
シリンダー	A6063(H)	20×25	¥48
ボトムキャップ	C3604	φ26	¥173
ヘッド			
クランク			
クランクシャフト	SS400	φ6	¥70
ピストンロッド	〃	φ4	¥48
クランクコネクタ	C3604(H)	8×10	¥30
ブッシュ	SS400	φ4	¥10
ブッシュ	〃	φ5	¥38
パイプニップル	市販品	φ6 M5	¥240
ピストン	C3604	φ13	¥51
M3ネジ	市販品	M3L30	¥3
M3ネジ		M3L15	¥2
M3ネジ		M3L10	¥16
M3イモネジ		M3L4	¥16
M4ナット		M4	¥2
M3平ワッシャー		M3	¥3
M3バネワッシャー		M3	¥2
M3ナット		M3	¥2
ピストンリング		テフロン	P10
シリンダー ガasket	紙製	420×250 t0.3	¥10
パッキングナット	C3604	六角棒10	¥14
リング	フッ素ゴム	P4	¥41
			¥1,581

3.3 実習への導入

試作機の設計及び製作で得られた結果より、実際に一年を通した学生実習で加工・組み立てを行った結果、以下のような問題点が表出した。

- (1) 学生の図面の読み取り不足
- (2) 加工前のケガキ作業の不正確さ
- (3) 加工精度の不良

このことから、実習における指導方法や部品形状の変更を以下の通り行うこととした。

- (1) 図面内容の詳細説明：事前に配布した図面集だけでは、加工における重要なポイントが図面の理解不足により見落としてしまうことが多く見られたため、加工前にポイントを周知する。
- (2) ケガキ作業の要点説明：基準線を明確にし、寸法の大事なポイントを確認することにより正確なケガキ作業を行えるようにした。
- (3) 加工方法の説明：ポンチ作業の実演及びボール盤加工時の固定方法の周知。
- (4) 部品形状の簡略化：フライホイール肉抜き加工の省略、クランクコネクタの形状変更等。
- (5) 部品寸法の変更：M3ネジからM4ネジへとサイズアップ。ネジ部サイズ変更に伴う穴寸法の変更。

製作コストの比較を表2に示す。

表2 製作コスト比較表

部品名	材質		規格		一台単価	
	変更前	変更後	変更前	変更後	変更前	変更後
フレーム	AC2A	変更なし	約6キ口	変更なし	¥474	¥474
フライホイール	A6063		φ60		¥200	¥200
シリンダー	A6063(H)		20×25		30×30	¥48
ボトムキャップ	C3604	A2017	φ26	φ30	¥173	¥62
ヘッド						
クランク						
クランクシャフト	SS400	変更なし	φ6	変更なし	¥70	¥70
ピストンロッド	〃		φ4		¥48	¥48
クランクコネクタ	C3604(H)	A2017	8×10	φ13	¥30	¥30
ブッシュ	SS400	変更なし	φ4	変更なし	¥10	¥10
ブッシュ	〃		φ5		¥38	¥38
パイプニップル	市販品		φ6 M5		¥240	¥240
ピストン	C3604	A2017	φ13		¥51	¥51
M3ネジ	市販品	変更なし	M3L30	M4L30	¥3	¥3
M3ネジ			M3L15	M4L15	¥2	¥2
M3ネジ			M3L10	M4L10	¥16	¥16
M3イモネジ			M3L4	M4L4	¥16	¥16
M4ナット			M4		¥2	¥2
M3平ワッシャー			M3		¥3	¥3
M3平ワッシャー			M3		¥2	¥2
M3ナット			M3		¥2	¥2
ピストンリング	テフロン	変更なし	P10	変更なし	¥88	¥88
シリンダー ガスケット	紙製	変更なし	420×250 t0.3		¥10	¥10
パッキングナット	C3604	SS400	六角棒10		¥14	¥7
Oリング	フッ素ゴム	変更なし	P4		¥41	¥41
					¥1,581	¥1,489

4. 性能試験

完成したエンジンは、バイス上に固定して回転数を測定するなどの、性能試験を行う。



図11 性能試験

性能試験では、非接触式の回転計を用いて、フライホイール外周の速度を計測している。空気圧0.4 [MPa]の条件で試験を行い、学生の組み立てたエンジンでの最高回転数は、4,000回転を超えるまでとなっているが、このエンジンの構造上、長時間高速回転させてしまうと、ネジ部が緩み、危険であるために、現在は個別の完成度に応じて空気圧を落とした条件での試験を行っている。同じ構造のエンジンであるが、加工精度や組み立て精度により試験結果にかなりの開きが出ている。

5. まとめ

その後、毎年改善を繰り返し、材料や寸法の変更を行い、製作手順の変更等を行った結果、初年度の頃に比べて学生の理解度の向上も見受けられ、完成品の精度も向上している。学生の実習への取り組み方も従来に比べて、意欲を持って臨んでいる姿も多く見られ、実習テーマの一つとして、教育効果が高いと感じている。今後もこのような学生が自ら加工し組み立て・調整を行う実習を行うことで、図面の見方や加工精度の重要性が体験できる教材を開発し、学生たちにとって社会に出る前の大切な一歩にしていきたい。

参考文献

- 1) 株式会社メガケム：揺動スチームエンジンキット https://www.megachem.co.jp/Energy/Steam_Engine/html/2A_Engine.htm