

山梨県固有のデザインソースの編集と アーカイブ構築

Design Sources Peculiar to Yamanashi, Japan: The Collection,
Digitization and Archiving

山梨県固有のデザインソースの編集とアーカイブ構築（第2報）

申田 賢一¹・渡辺 誠¹・鈴木 文晃¹・佐藤 博紀¹・石田 正文¹・三井由香里¹・五十嵐哲也²・秋本 梨恵²
(¹山梨県工業技術センター, ²山梨県富士工業技術センター)

Design sources peculiar to Yamanashi, Japan: The collection, digitization, and archiving (2nd report)

¹Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center, ²Yamanashi Prefectural Fuji Industrial Technology Center
Ken'ichi KUSHIDA¹, Makoto WATANABE¹, Fumiaki SUZUKI¹, Hiroki SATO¹, Masafumi ISHIDA¹, Yukari MITSUI¹,
Tetsuya IGARASHI² and Rie AKIMOTO²

要約：本研究は、地域の中で眠っている地域資源や歴史資源を商品開発に活用することのできるデザインソースとして編集～公開することで、中小企業のオリジナリティあふれる商品創出に資することを目的として実施している。

研究の中で整備するデザインソースの種別を「形状」「模様」「色彩」「物語」の4つに設定し、有形・無形を問わず対象の取材～デザインソース化（コンピュータ上で所定の機能を果たすように編集したデジタルデータ）を行うとともに、これらのデザインソースを登録したデザインデータベースの作製を進めている。

今年度は、前報に引き続き染色用型紙や甲斐絹の文様等の2次元素材を対象としたデザインソース作製を継続する一方で、新たに縄文土器や古い農耕具、信仰用具等の有形物を対象とした3次元のデザインソース作製に取り組んだ。その結果、新たに966点をデザインソース化し、研究初年度からの累計で1,275点のデザインソースを整備した。

また、これらのデザインソースを管理・蓄積するスタンドアロン型のデータベースと、一般公開を目的とするWeb上で動作するデータベースの2種のシステム構築を行った。

Abstract : This research is being carried out with the goal of contributing to the creation of products full of the originality of small and medium sized enterprises, by compiling and publicly releasing the regional and historical resources that reside within different localities as practical design sources for product development. The design sources that will be handled in this research have been configured into four categories: Shape, Pattern, Color, and Story. In addition to collecting objects, regardless of tangibility or intangibility, and turning them into design sources (digitized and edited using computer in order to fulfill a prescribed function) , a design database is being developed where these design sources will be stored.

This year, while continuing the development of two dimensional design sources such as yarn-dyed silk goods "KAIKI" designs and pattern paper for dyeing mentioned in the previous report, we strove to develop three dimensional design sources based on such tangible objects as Jomon rope-patterned pottery, old farming equipment, and implements of religious devotion. As a result, we created 966 new design sources, bringing the total number of design sources since the first year of this research to 1,275 entries.

We also constructed two types of database system: one web-based system that will allow the design sources to be made available to the general public, and one stand-alone database for storage and maintenance of the design sources.

1. 緒言

近年、新興国がコスト競争力を武器に国際市場の獲得を進める中、日本では、各地の歴史・文化に育まれてきた素材や伝統的技術等の地域資源を生かし、現代生活や市場で通用する商品開発やブランド確立に向けた取組が盛んに行われている。

国では、クール・ジャパン戦略をはじめ、鉱工業品、農林水産物、観光資源等を対象とした中小企業地域資源活用促進法（H19.6.29施行）、JAPANブランド育成支援

事業、農商工連携等の施策を設け、各地の取組を積極的に後押しし、ひいては日本国としてのオリジナリティを際立たせようと試みている。

今後、中小企業の商品・サービスが競争優位性を保ち、市場を創造していくうえでは、地域資源の有効活用を図ることがこれまで以上に重要となってくると推察される。

しかしながら、本県の地域資源を概観した時、①一般化した知見になっている、あるいは、知見としてのみ存在している、②存在が認知されていない、③「商品開発

に活用する」という観点から情報編集されていない、といった課題があり、必ずしも商品開発に有効に活用されているとは言えない状態にある。

こうしたことから、今後、中小企業が地域資源を有効活用し、競争力あるものづくりを進めていくためには、既存の資源の見直しを行う、あるいは、眠っている資源を掘り起こす等、より深みのあるコンテンツを生み出し、デザインソースとして流通させていく仕組みづくりを行うことが重要となっている。

本研究は、地域に存在している地域資源や歴史資源を調査する中から商品開発に有効と思われる対象をセレクトし、地場産業等で活用することのできるデザインソースとして編集・集積・公開することで、地域に根ざした新規プロダクトの創出に資することを目的として実施した。

2. デザインソースの作製及びアーカイブ構築

本研究で取材～整備していくデザインソースの種別を「形状」「模様」「色彩」「物語」の4つに定義し、取材対象のセレクト～取材～デザインソース化(コンピュータ上で所定の機能を果たすように編集したデジタルデータ)作業を行った。

今年度は、前報に引き続き染色用型紙や甲斐絹の文様等の2次元素材を対象としたデザインソース作製を継続する一方で、新たに縄文土器や古い農具、信仰用具等の有形物を対象とした3次元のデザインソース作製に取り組んだ。

また、蓄積したデザインソースの管理及び一般公開を目的としてデザインデータベースの製作に取り組んだ(図1)。

以下にその概要を示す。

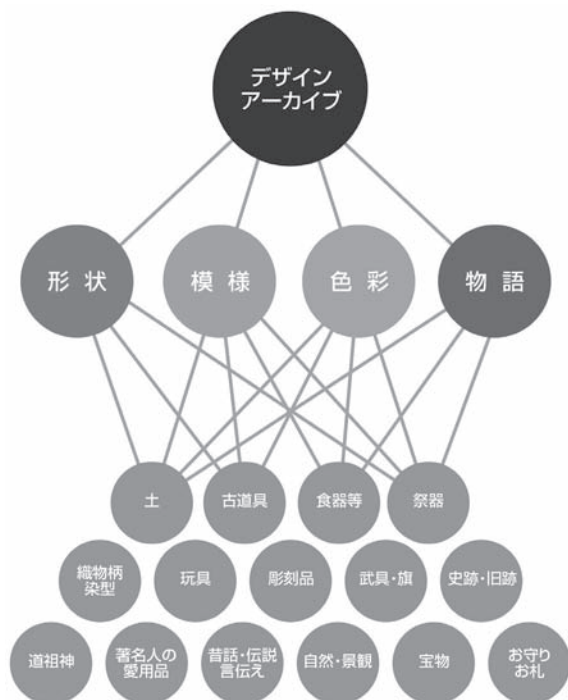


図1 研究の全体構成

2-1 デザインソース「形状」

研究協力機関等が管理している収蔵品等の中から、本県に關係の深い物品であって本県産業の新製品につながると考えられる物品及び協力機関から推薦のあった物品108点を対象とした(表1-1)(表1-2)。

これら対象のデジタルデータ化は、各研究協力機関の施設へ3次元スキャナー(COMET L3D 8M: Steinbichler製)を持ち込み、外乱光の影響が少なく温度状態の安定した屋内の計測環境において、資料管理者の立会の下に表面形状の測定を実施し3次元データの取得を行った。

測定は対象のサイズ、表面に施された模様等のディテールの細かさの別によって適宜測定レンズの交換を行い、形状の再現性を高める方法を採用した。

3次元スキャナーにより取得した大量の点群データは、点群データ処理アプリケーション(COMET PLUS: Steinbichler製)を用いて複数ショットを合成しポリゴンデータとして出力した後、リバースエンジニアリングアプリケーション(Geomagic Studio: 3DSYSTEMS製)により、微細な穴、不良エッジ、スパイク等の特有のエラーを修正しSTLデータとして出力した。その後、PC上でのハンドリング性を考慮し、点群データ処理アプリケーションによりリダクション処理を施し、データ量の低減を図った。リダクション作業は5種類の設定(表2)を用意し、対象のサイズやディテールの状況により使い分けて実施した。

なお、使用した3次元スキャナーはCCDカメラ方式であるため、中空構造を有する物品の内壁や極端に隣接した面等、どのような角度からアプローチしてもカメラから見えない部分についてはデータの取得は行っていない。

2-2 デザインソース「模様」

早川家染型紙資料¹⁾及び甲斐絹ミュージアム²⁾の中から、現代生活にあっても通用するモダンさ、可愛らしさ、ポップさ等の要素を含んでいると判断される模様について、それぞれ75点、30点をセレクトし、デザインソース化を行った。作業用にセレクトした原版の一部を図2に示す。

セレクトした原版は2Dスキャン、または撮影によってコンピュータ内にデータを取り込み、模様を構成している主たる構成要素の特定を行った。その後、ドローイングアプリケーション(Illustrator CS6: Adobe製)を使用し、それらの外形ラインを整理しつつベクターデータ化を行った。ベクターデータにより作製したパーツは個別または複数を組み合わせながらシームレスな模様となるよう再配置した。この作製工程の概要を図3に示す。

この時、原版の再現に近い状態となるよう配置したものと、作製したパーツを生かして新たな模様として成立

表1-1 3次元スキャン対象物一覧

No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名
1		壺 (高蒲池遺跡)	15		有孔罎付土器(1) (原町農業高校前遺跡)	29		有孔罎付土器(2) (酒呑場遺跡)	43		釣手土器 (蔵原東久保遺跡)
2		金環 (平林2号墳)	16		釣手土器 (塩瀬下原遺跡)	30		深鉢型土器(7) (一の沢遺跡)	44		台付三つ口壺 (大日川原遺跡)
3		銀象嵌太刀柄頭 (レプリカ) (古柳塚古墳)	17		深鉢型土器(1) (一の沢遺跡)	31		石刃 (丘の公園第1遺跡)	45		顔面把手付深鉢土器 (竹宇1遺跡)
4		単鳳環頭太刀柄頭 (レプリカ) (寺の前2号墳)	18		深鉢型土器(2) (酒呑場遺跡)	32		勾玉 (金生遺跡)	46		顔面把手付深鉢 (津金御所前遺跡)
5		土偶「ヤッホー」 (レプリカ) (桂野遺跡)	19		深鉢型土器(3) (上の平遺跡)	33		三角形土版 (金生遺跡)	47		カナカンブツ (玩具)
6		泥塔 (権現堂遺跡)	20		深鉢型土器(4) (天神遺跡)	34		中空土偶 (金生遺跡)	48		不動明王 (信仰用具)
7		ハンウ(須恵器) (二之宮-姥塚遺跡)	21		鍾	35		土製耳飾 (金生遺跡)	49		厨子 (信仰用具)
8		鍬(歯) (身洗沢遺跡)	22		釘隠 (甲府城跡)	36		土版 (金生遺跡)	50		目貫(1点) (装身具)
9		甲州金一分判 (鯉沢河岸跡)	23		台付鉢型土器(1) (甲ツ原遺跡)	37		耳皿 (梅之木遺跡)	51		糸巻き (衣生活用具)
10		六鈴鏡 (大塚古墳)	24		八稜鏡 (百々遺跡)	38		両耳壺 (梅之木遺跡)	52		桑爪 (農耕用具)
11		鈴釧 (大塚古墳)	25		香	39		顔面裝飾付土器 (鯉沢河岸跡寺所第2遺跡)	53		粥かき棒 (祭礼用具)
12		容器型土偶(1) (岡遺跡)	26		ハンウ	40		土偶裝飾付土器 (寺所第2遺跡)	54		ハイボコサン (祭礼用具)
13		容器型土偶(2) (岡遺跡)	27		注口土器(2) (中谷遺跡)	41		土偶裝飾付有孔罎付土器 (諏訪原遺跡)	55		おかたぶちの棒 (祭礼用具)
14		土偶 (大木戸遺跡)	28		三つ葉葵紋軒棧瓦 (甲府城跡)	42		垂飾 (青木遺跡)	56		回転旗 (農耕用具)

するよう編集作業を行ったものがある。これは、元の構成要素と模様の状態によって都度判断して作製を進めた。

また、染型紙の原版は手仕事によるものであることに

着想を得て、シームレス化した模様に対しドロ잉アプリケーションに搭載されているパス編集用フィルタを用いて全体に変形処理を施すことで、手仕事特有の「ゆ

表1-2 3次元スキャン対象物一覧

No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名	No.	対象物品(画像)	物品名
57		上棟式の槌 (信仰用具)	70		八角輪宝	83		龍模様の急須	96		S字瓶
58		蔵王権現像 (信仰用具)	71		鉄瓶(1)	84		弥生時代の土器 (堂の前遺跡)	97		尖頭器
59		えびす・大黒像 (木喰仏) (信仰用具)	72		鉄瓶(2)	85		注口浅鉢	98		火のし
60		獅子頭	73		彫刻 (ワインをつくる人々)	86		せんべいの型(1)	99		土樽型ハソウ (寺部村附遺跡)
61		大黒天像 (信仰用具)	74		酔いどれタコ	87		せんべいの型(2)	100		円錐型土偶 (鋳物師屋遺跡)
62		鞍	75		花見	88		万葉時代の器 (宮ノ前遺跡)	101		人体文様付有孔鋳付土器 (鋳物師屋遺跡)
63		香炉	76		長寿	89		猫こたつ	102		石皿・磨石 (徳永・御崎遺跡)
64		急須	77		羅生門	90		甲斐型土器 (宮ノ前遺跡)	103		カエル・ヘビ文様土器 (北原C遺跡)
65		托鉢椀(木製)	78		龍	91		米とぎ器	104		小型壺 (北原C遺跡)
66		水差し(墨滴)	79		そろばんネズミ	92		石鏃	105		土偶(猿)
67		目貫(干支)	80		ライオンとトラ	93		大型四単位把手 (石之坪遺跡)	106		野牛
68		大徳利	81		土偶(ウーラ)	94		小林一三の湯飲み	107		和鏡 (野牛島西ノ久保遺跡)
69		托鉢椀(金属)	82		土偶 (石之坪遺跡)	95		矢立	108		土偶(女性)

らぎ」や「不均一さ」のようなイメージを付加し、新たなテイストを有する模様の作製を試みた。

なお、原版一つに対し一つ以上の新柄を開発しており、染型紙をベースに制作した柄については図と地を反転したものを対で、甲斐絹をベースに制作した柄については彩色した状態のものとして仕上げている。

表2 リダクションの設定値

サイズ分類	対象の概寸	元データからの許容変位量	最大エッジ長
小物	20 × 20 × 20	元のデータに対し0.01mm	1mm
中小物	140 × 100 × 80	元のデータに対し0.02mm	2mm
中物	300 × 250 × 200	元のデータに対し0.03mm	3mm
大物(細かい)	600 × 400 × 350	元のデータに対し0.03mm	5mm
大物	600 × 400 × 350	元のデータに対し0.05mm	5mm

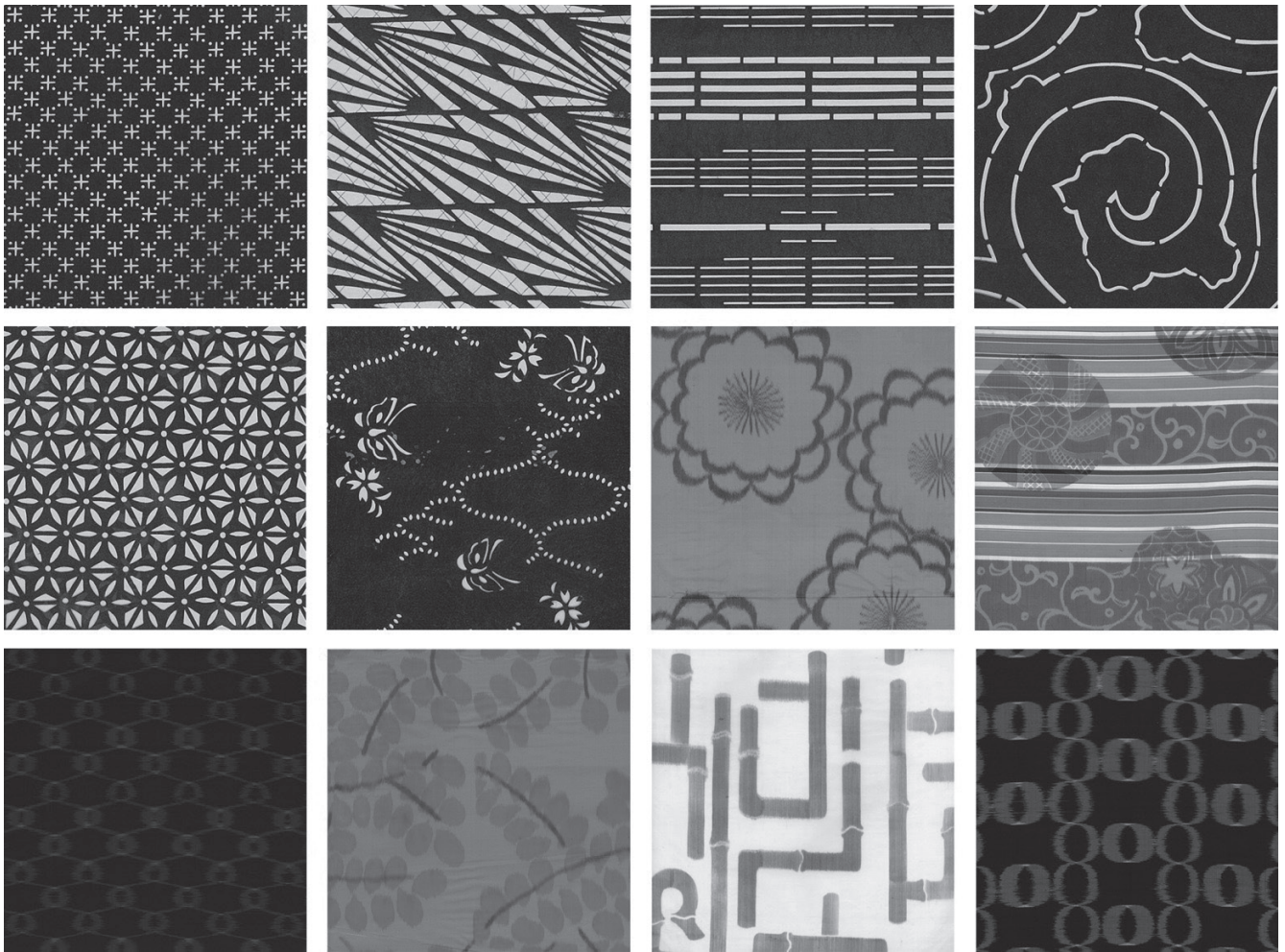


図2 ベクターデータ化用にセレクトした染型紙及び甲斐絹のサンプル

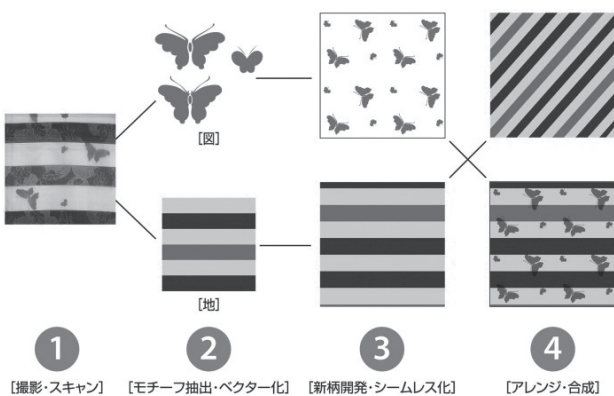


図3 ベクターデータ化の工程概要

2-3 デザインソース「色彩」

地域固有の色彩情報として、前報に引き続き県内各地の土壌の色にそれを求めることとした。土は100年で1cmとも言われるほど生成に時間のかかる天然の材料であり、時間とそこに暮らした生物、有機物、気候や温度等の相互作用の産物であることから、地域固有のソースとしては魅力ある素材である。

サンプルとなる土は甲府市北部、南アルプス市、早川町を中心に県内25地点(図4)において、およそ人の手が入っておらず、地層が顕になっているような場所を徒歩にて探索、目視によって土の色を判別した後にスコップを用いて選択的に少量を採取する方法を採った。

採取した土は耐熱容器に広げた状態で乾燥機(インター万能精密恒温槽:株式会社中央理研製)を使用し85℃にて24時間乾燥させた後、目視により比較的大きな石や枯葉、植物の根等の異物を除去、その後、710 μ m、350 μ m、160 μ mの金属製メッシュを用いて段階的に篩いを行うことでさらに細かな異物や0.3mm以上の粒径の石を除去し、最終的に得られたパウダー状の土を乳鉢によるすり工程を経ることでカラーサンプルとして仕上げた。この時の土の変化の様子を図5に示す。

得られたカラーサンプルは保存用ガラス瓶に封入し、その状態で分光測色計(CM-2600d:コニカミノルタ製)を用いて底面部から測色を行い、Lab値を取得するとともに、画像処理アプリケーション(Photoshop CS6:Adobe製)を用いてLab値に基づきカラーサンプルを作成した。



図4 土壌を採取した県内25地点



図5 処理による土の変化の様子

2-4 デザインソース「物語」

一般的に閲覧することのできる郷土の昔話・伝説を収録した資料³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾を複数名で読み込み、内容の重複等を確認しながらテキストデータ化を行った。

この時、物語・伝説中に登場する場所や建物、物品についても併せて調査を行いテキスト情報の補完を図った。

なお、複数の資料に同類型のもので、内容の一部が異なるケースが散見されたが、現段階では、なるべく同一の資料からより多くの物語・伝説を採用するよう選択を行った。

2-5 デザインデータベース「YAMANASHI DESIGN ARCHIVE」の構築

作製したデザインソース、その基となった資料、さらには追加取材したデータの管理及び一般公開時のメディアとして機能させることを目的とし、デザインデータベースの作製を行った。デザインデータベースは、管理者側のデータ蓄積及び管理を主目的としたスタンドアロン型と、一般公開による使用者の自由な検索・閲覧を可能とするWebサイト型の2種について作製を進めた。

スタンドアロン型のデータベースについては、前報に引き続き、データベースアプリケーション (Filemaker PRO12: FileMaker製) を用いて作製を進めた。

Webサイト型のデータベースについては、Wordpress

を用いてCMSを作製するとともに、データベースの利用価値を高める検索システム等を作製した。

3. 結果

取材～デザインソース化作業並びにデータベースの作製を行った結果について述べる。

3-1 デザインソース「形状」

対象となった3次元スキャンにより得られたSTL形式の3次元データの一例を図6に示す。

これはレンズ75mm (測定範囲80mm*60mm*40mm)にて3次元スキャンした対象を撮影した画像とそのレンダリング画像であり、上から順に「金環 (平林2号墳)」 「和鏡 (野牛島西ノ久保遺跡)」 「尖頭器 (藤井南下条滝坂遺

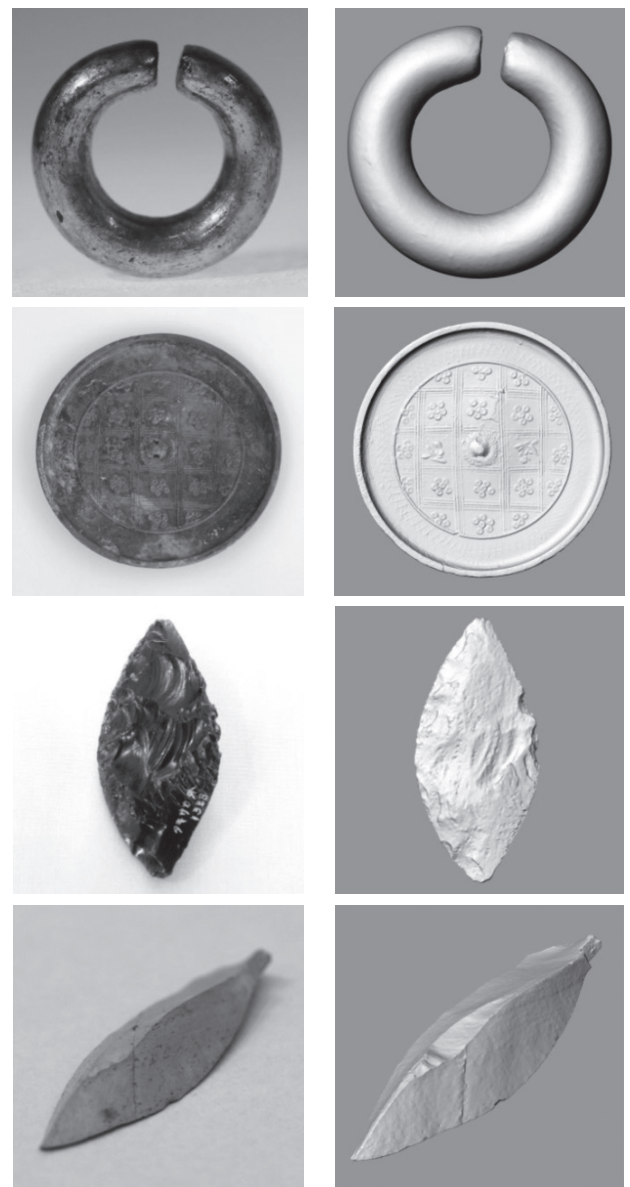


図6 レンズ75mmでスキャンした対象とレンダリング画像 (上から順に「金環」「和鏡」「尖頭器」「石刃」)

跡]「石刃(丘の公園第1遺跡)」である。全体寸法はΦ23mm, Φ85mm×t=4.6mm, 76mm×21mm×10mm, 75mm×36mm×13mmと、いずれも全体寸法やディテールが極めて小さな対象である。

まず、「金環」の対象写真とレンダリング画像の比較では、対象表面に散見される細かな傷痕や凹凸がスキャンデータでは飛んでしまっていることが観察される。

一方、同程度のディテールを有する「和鏡」では、対象表面に模様として存在している0.2mm程度の微細な凹凸が綺麗に再現されている様子が観察できる。この差は、対象の表面状態による光沢の有無が強く影響していると考えられる。

次に「尖頭器」は、黒色で透明感を有し、かつ強めの光沢感を有する石であり、一般的に3次元スキャンには不向きとされる対象であるが、図のとおり綺麗に再現されている。ただ、薄肉となるエッジ部分においては、一部、データの欠損が見られた。

一方、同程度のサイズである「石刃」のエッジ部分ではこのようなデータの欠損は見られなかった。これは、エッジ部分において3次元スキャナから投影される光が薄肉部分で透過してしまうことに起因するものと考えられる。

図7はレンズ300mm(測定範囲140mm*105mm*80mm)にて3次元スキャンした「円錐型土偶(鋳物師屋遺跡出土品)」とそのレンダリング画像である。対象は256mm×135mm×152mmの円錐形をしたものであり、表面は土器特有の粗めのテクスチャーの上に、一つひとつ手で押されたと思われる長さ1mm~10mm, 深さ0.3mm~2mm程度の細かで、しかし、その形状が不規則な模様が連続的に存在している。



図7 レンズ300mmでスキャンした円錐型土偶

スキャンデータを観察すると、この不規則な模様の溝の奥部分まで再現されている様子が見て取れ(図8)、サイズとディテールが両立されていることが伺える。



図8 円錐型土偶の表面模様の状態

図9及び図10はレンズ75mm(測定範囲80mm*60mm*40mm)にて3次元スキャンした「長寿(根付)」とそのディテールである。対象全体のサイズは40mm×33mm×33mmと小さなものである。この対象では、象牙特有の縞目が対象の表面にはっきりと現れているほか、亀甲を表現する筋彫り部をはじめとする0.2mm程度の細かなディテールが多く、さらには、象牙特有のアイボリーホワイトの強い光沢感のある表面状態となっている。これらはいずれもスキャン結果に影響を及ぼす要素であるが、全体的に精緻にデータ化できている様子が見て取れる。ただ、アイボリーホワイトを基調とした濃淡によって表面に現れている縞目については層状の表面形状としてデータ化されてしまっている。

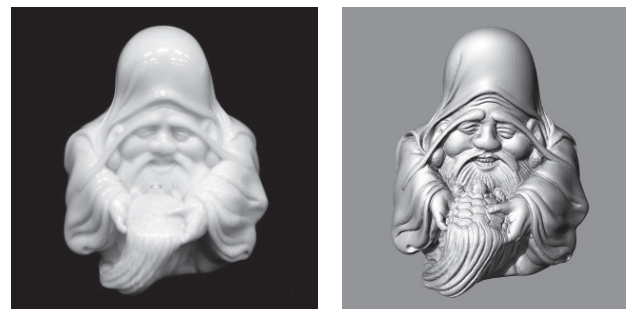


図9 レンズ75mmでスキャンした象牙製の根付

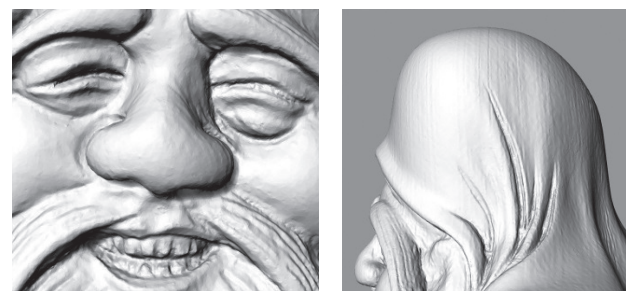


図10 根付のスキャンデータのディテール

リダクション後のデータ容量は、リダクション前のそれと比較し全体平均で元データに対して平均で68.9%

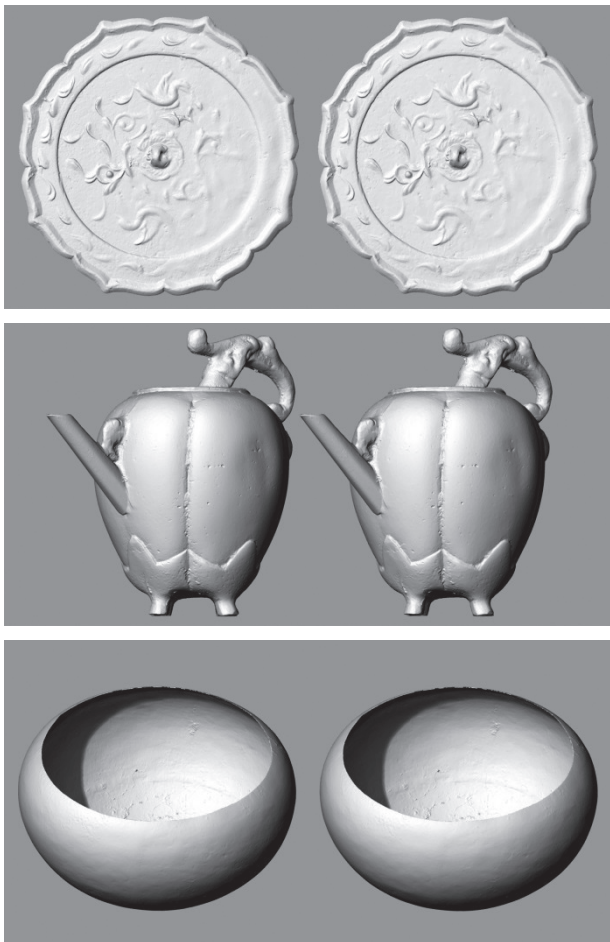


図11 リダクション前後のモデル比較
(左：リダクション前 右：リダクション後)

の減量となっている。大きな減量となった対象は「八稜鏡88.75%」「水差し88.22%」「托鉢碗86.49%」である。逆に小さな減量となった対象は「土偶(猿)31.3%」「土偶(女性)33.36%」「壺35.1%」となっている。大幅な減量となったモデルのリダクション前後のレンダリング画像を図11に示す。大幅な減量にも関わらず、ディテールが保持されている様子が観察される。

なお、対象となった108点の物品については全て3次元データ化を図り、リダクション処理までを完了した。これらのデータは、現状では、リダクション処理後のデータについてSTL形式でのみ提供される。

3-2 デザインソース「模様」

図2に示した染型紙及び甲斐絹のサンプルについてベクターデータ化及びシームレス処理したものを図12に示す。模様を構成する主要なパーツの外形ラインが整理されたうえでパターン化されているため、原版の特徴を生かしながら、より洗練された模様として再構成されている様子が分かる。

図13は、図12に示したサンプルにドローイングアプリケーションのパス変形フィルタを施したものの一例である。

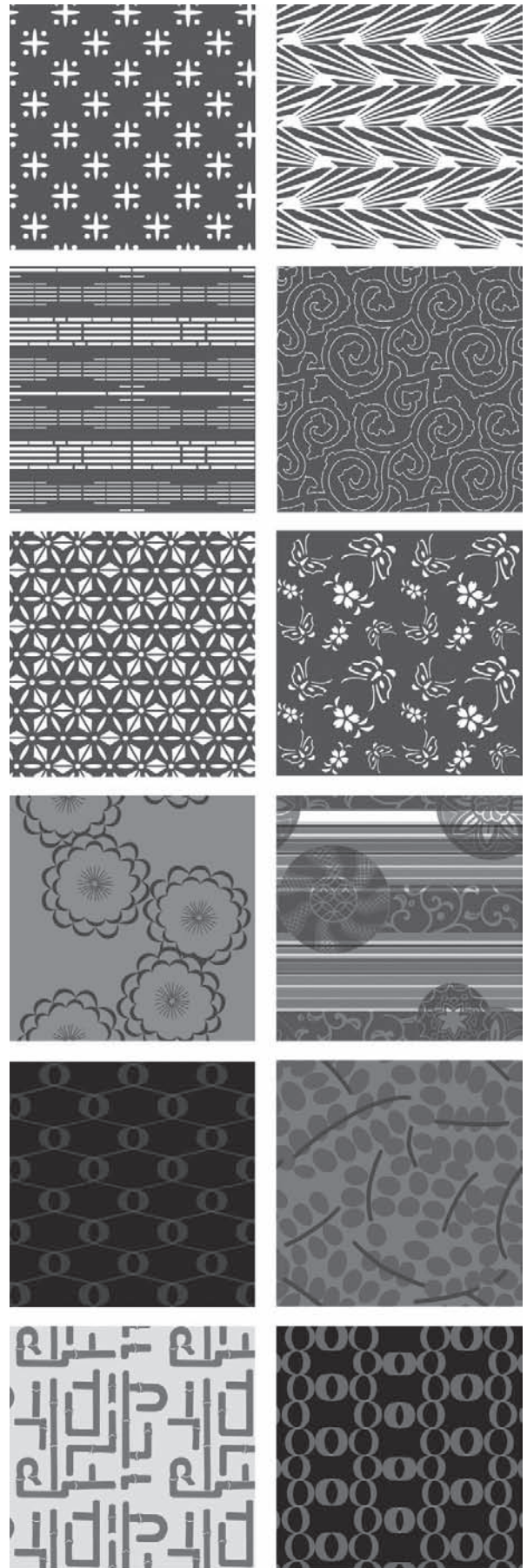


図12 シームレス処理したパターンサンプル

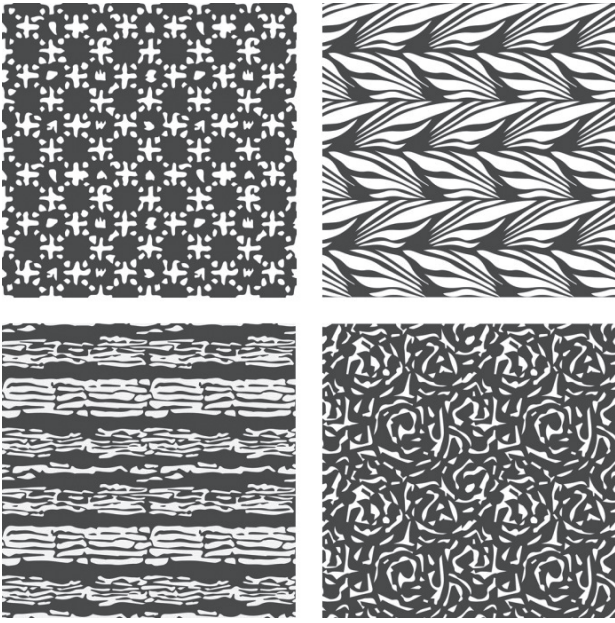


図13 パス変形フィルタを適用したサンプル

この処理は、元となる模様の構成内容により、都度、設定値を変化させる必要があるが、ここに示したサンプルでは、例えば印伝に見られる木目模様のような新たなテイストを持ったユニークな模様として仕上がっている。

この処理を施した模様についてもシームレス処理を行っているため、タイリングによる継ぎ目は生じない。

なお、これらの模様データは370点を作製した。これらのデータは、現状ではai形式 (Illustrator CS6 : Adobe 製のネイティブのファイル形式) でのみ提供される。

3-3 デザインソース「色彩」

所定の処理を経て得たカラーサンプルを図14に、このカラーサンプルを測色して得たLab値 (SCI (正反射光+拡散反射光), SCE (散反射光)) 及び彩度C*に基づく散布図を図15～図18に示す。なお、彩度C*は式(1)で求めている。

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \dots\dots\dots (1)$$

図15及び図17から、比較的に濃く、鮮やかな色が多くサンプリングされていると言える。

また、図16及び図18から、くすんだ緑色から赤色方向、黄色方向の色相の色まで分布していることが伺える。

取得したLab値に基づき、アプリケーション (Photoshop CS6 : Adobe 製) 上において色再現を行った。測色して得られたLab値の小数点以下については、現在のアプリケーションの仕様では数値入力することができないため、再現にあたっては小数点以下を四捨五入した値を採用している。色再現したカラーサンプルを図19及び図20に示す。



図14 処理を終えた土のカラーサンプル

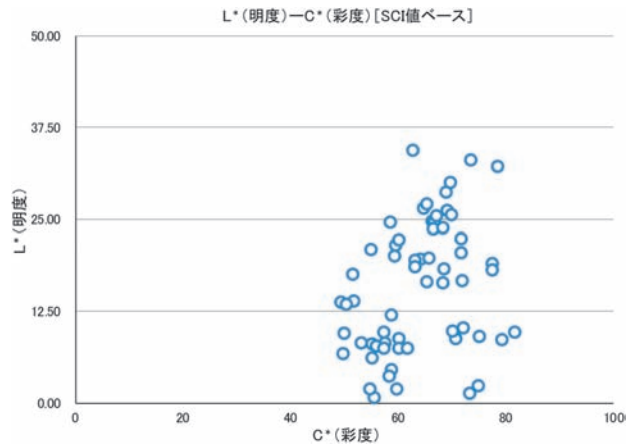


図15 L*-C*図 (SCI値ベース)

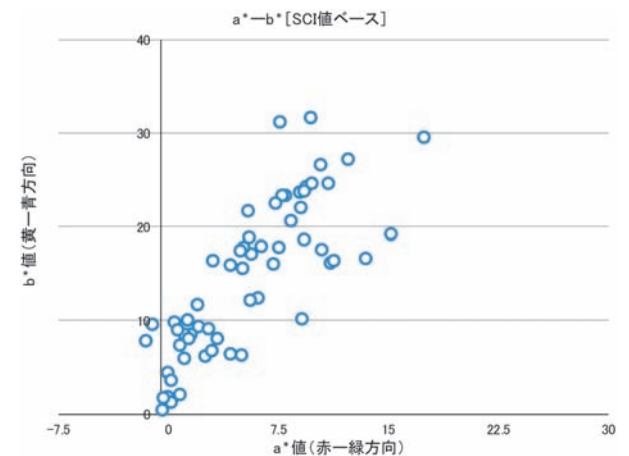


図16 a*-b*図 (SCI値ベース)

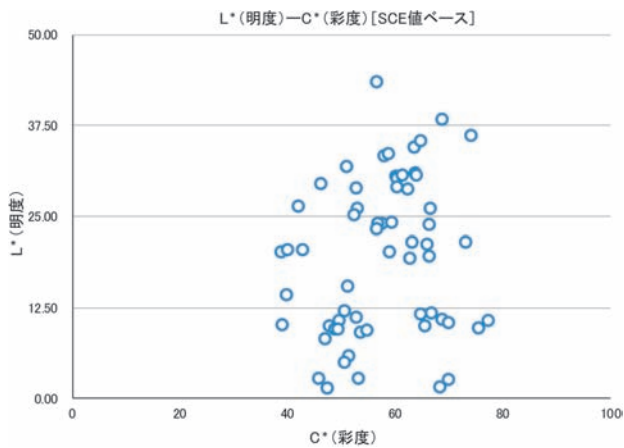


図17 L*-C*図 (SCE値ベース)

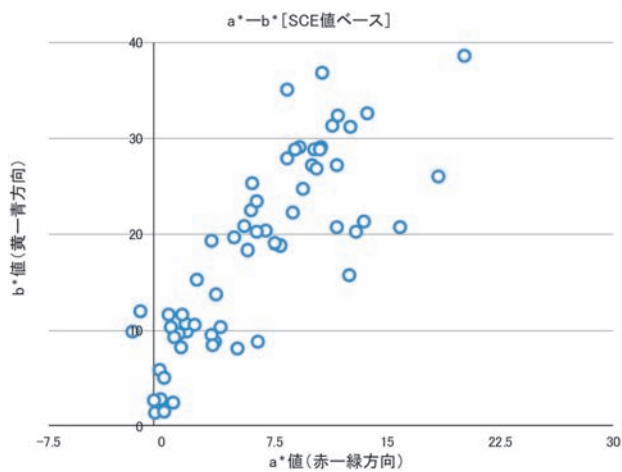


図18 a*-b*図 (SCE値ベース)

図14と図19及び図20とを比較した場合、色味に違いが生じていることが確認できる。これは、前述したとおり、小数点以下の数値が反映されていないこと、サンプル瓶を通した状態での測色であること等が原因として考えられる。

また、土のカラーサンプルは微細であるとはいえ、一定の粒径をもった粉末の集合体である。その一方で、再現されたカラーサンプルは紙の上に印刷されたものである。この点において視覚上の差異があることは否めない。今後は、人が知覚する色と再現される色との差異を補正する方法について検討する必要があると考える。また、使用に際しては、メディアの選択と同時に、両方のソースを合わせて提示する必要があると思われる。

なお、これらの色彩データは60色を作製した。これらのデータは、現状ではLab値でのみ提供される。

3-4 デザインソース「物語」

文献調査の結果、昔話・伝説について428話をピックアップしテキストデータ化、または、PDF化を図った。

また、これに併せて話中に登場する場所や建物、物品

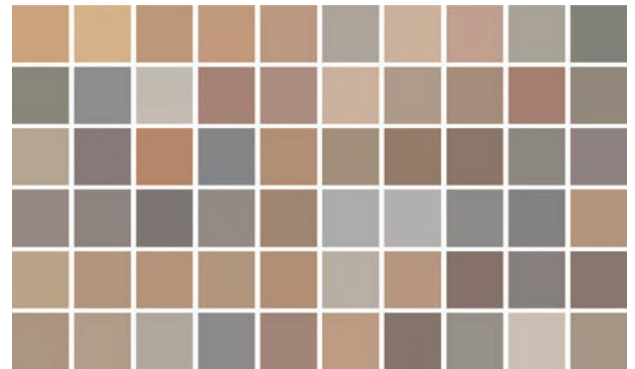


図19 色再現 (SCI値ベース)

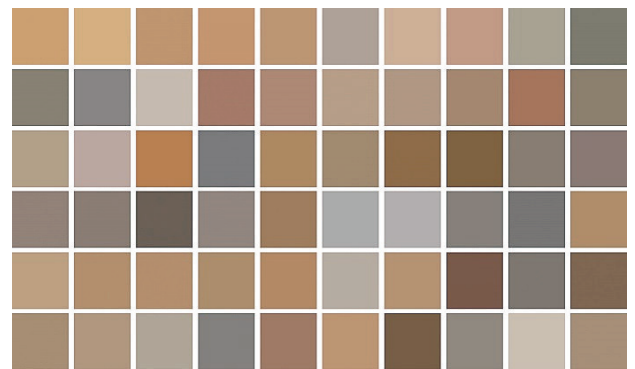


図20 色再現 (SCE値ベース)

について調査を行った結果、338箇所の住所、地域、所蔵先を特定することができた。実際に伝説等の原郷土を歩いてみると、道路の開発、その他の土木工事で消失していたり、名ある樹木の枯損などが散見されたりし、今年度撮影まで行なうことができた地点は55箇所であった。一例として「おなが淵(都留市桂町)」「鬼の杖(大月市賑岡町)」「塩山(甲州市塩山)」を図21に示す。

なお、撮影した場所等の画像データは、昔話・伝説のテキスト及びPDFデータと関連付けて保存した。

これらのデータは、現状では全てJPEG形式でのみ提供される。

3-5 デザインデータベース「YAMANASHI DESIGN ARCHIVE」の構築

まず、スタンドアロン型のデータベースの画面構成を図22に示す。前報からレイアウトを変更し、1,920pix×1,200pixの横長のディスプレイを左右に2分割したスタイルとしている。一つのデザインソースにつき1ページで構成しており、デザインソース及び関連情報を画面左半分に集約、一方、画面右半分はGoogle Mapと連動し、ソースの収蔵されている場所や入手先を示した地図情報が表示される構成としている。

なお、このスタンドアロン型のデータベースについては、前報に引き続きデータ蓄積と整理を目的としているため、現状では、検索機能をはじめとするデータベースとしての使い勝手を向上させるための機能等は実装して



図21 物語中に登場する物品や場所の一例
(上：おながが淵のお盆 中：鬼の杖 下：塩山)



図22 スタンドアロン型データベースの画面

いない。

次に、Webサイト型のデータベースについて図23に示す。オープニング画面は登録された画像がスライドショー式に順次切り替わる構成としている。また、デザインソースの種別毎にソース数を更新表示する機能を設けた。

トップ画面はオープニング画面から下方向へスクロールすることで連続的に現れる構成となっている。

トップ画面の構成は、データベースを操作するメニューバーとSNS対応のアイコン状のボタンがあるだけのシンプルな構成となっている(図24)。

表示されるデザインソースはデータの格納先からランダムにピックアップされてくる仕様としている。これは、仮に一定期間以上データの追加がない場合でも、常に新鮮な見た目を維持し、利用者の再訪率を高める意図がある。レイアウトはパソコンやスマートフォン、タブレット端末等、表示された機器の種類やサイズに応じて表示

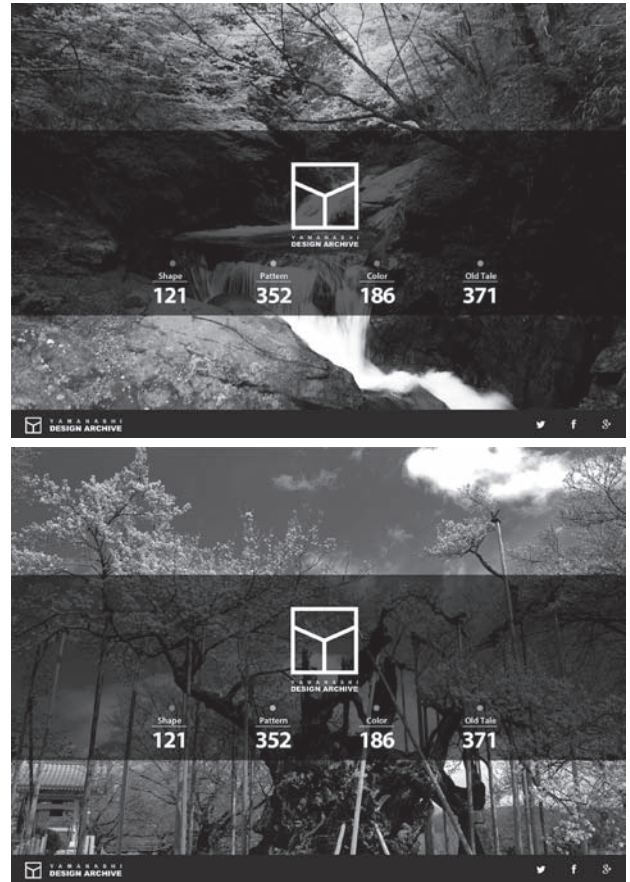


図23 Webサイトのオープニング画面

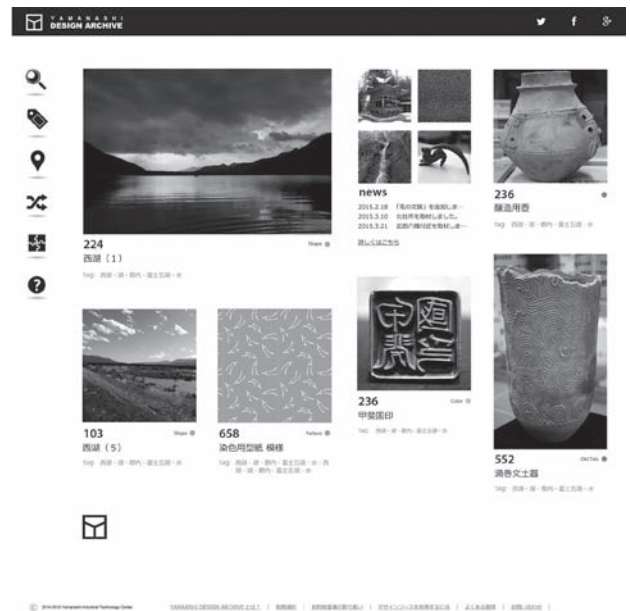


図24 Webサイトのトップ画面

内容が変化するレスポンスWebデザインを採用している。

データベース操作に係る機能は、現状では次のものを実装している。

- キーワード検索：デザインソースをキーワードにより検索できる。デザインソース名や本文が参照される。
- タグ検索：デザインソースに関連付けられたタグに基づいて検索することができる。
- マップ検索：Google Map上に表示されているデザインソースの収録されている場所や入手先を示すポイントから検索を行うことができる。
- シャッフル：トップページに表示されているソースを全て入れ替えることができる。
- ピックアップ4：ランダムに4つのデザインソースをピックアップし表示する。
- ヘルプ：機能の説明やデザインソースの利用に関する注意事項等が閲覧できる。

なお、現在登録されているデザインソースの画像、記述内容やサイトの動作については、現状における暫定的なものである。これらについては、次年度においてその詳細を詰めていくこととしている。

4. 結 言

地域の中で眠っている地域資源や歴史資源を商品開発に活用することのできるデザインソースとして編集～公開することを目的として、整備するデザインソースの種別を「形状」「模様」「色彩」「物語」の4つに設定し、有形・無形を問わず対象の取材～デザインソース化を行った。

その結果、「形状」108点、「模様」370点、「色彩」60色、「物語」428話をデザインソースとしてデジタルデータ化した。これにより、プレ研究時からの累計として1,275点のソースを整備した。

また、データベース管理者のデータ蓄積・管理を主目的としたスタンドアロン型、一般公開を主目的としたWebサイト型の2種類のデータベースの骨格となるシステムを作製した。

今後については、デザインソースの更なる調査・編集を進め量的充実を図っていくとともに、データベースの一般公開に向けて整備を進めていくこととしたい。

謝 辞

3次元スキャン対象物の選定にご協力いただくとともに、スキャン作業の実施に際し対象物の設営及び測定環境の整備等にご協力をいただきました。柏尾山大善寺(甲州市) 住職 井上哲秀様、根付彫刻士 宮澤宝泉様、韮崎市民俗資料館、南アルプス市ふるさと文化伝承館、北杜市考古資料館、山梨県立博物館、山梨県立考古博物館の皆様にご心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 甲州市：早川家型紙資料
- 2) 富士工業技術センター：甲斐絹ミュージアム
<http://www.pref.yamanashi.jp/kaiki/>
- 3) 土橋里木：甲斐の民話（日本の民話第17）、未来社、p13-p258（1959）
- 4) 土橋里木：甲州昔話集（全国昔話資料集成16）、岩崎美術社、p11-p218（1975）
- 5) 土橋里木・土橋治重：甲州の伝説（日本の伝説10）、角川書店、p12-p250（1976）
- 6) あずさとりょう：甲州むかし話 上巻、山梨日々新聞社、p4-p93（1985）
- 7) あずさとりょう：甲州むかし話 下巻、山梨日々新聞社、p4-p85（1985）

成果発表状況

発表

- 1) 申田賢一：山梨県固有のデザインソースの編集とアーカイブ構築，産業技術連携推進会議 ライフサイエンス部会 第15回デザイン分科会，岐阜，2014
- 2) 申田賢一：山梨県固有のデザインソースの編集とアーカイブ構築，産業技術連携推進会議 ライフサイエンス部会 第16回デザイン分科会 第8回研究発表会，長野，2014

寄稿

- 1) 申田賢一：Yamanashi SoilColor Collection —土の色から山梨固有の色彩情報を定義する—，YAFOメールマガジン Vol.50，公益財団法人 山梨総合研究所，2014

新しいバイオマーカーを利用した山梨県の 有用植物等資源の探索と活用

Search and Utilization of Useful Plant Resources of Yamanashi Prefecture using a
New Biomarker

新しいバイオマーカーを利用した山梨県の有用植物等資源の探索と活用

戸沢 一宏¹, 柴田 尚¹, 小林 浩², 小泉 美樹², 木村 英生³, 樋口 かよ³, 長谷川達也⁴, 北島 潤一⁵,
高野 昭人⁵, 小松 弘幸⁶

(¹森林総合研究所, ²衛生環境研究所, ³工業技術センター, ⁴富士山科学研究所, ⁵昭和薬科大学,
⁶シミックバイオリサーチセンター)

Search and utilization of useful plants such as resources of Yamanashi Prefecture using a new biomarker

Kazuhiro Tozawa¹, Hisashi Shibata¹, Hiroshi Kobayashi², Miki Koizumi², Hideo Kimura³, Kayo Higuchi³, Tatsuya Hasegawa⁴,
Junichi Kitajima⁵, Akihito Takano⁵, Hiroyuki Komatsu⁶

(¹Yamanashi Forest and Forestry Product Research Institute, ²Yamanashi Institute for Public Health and Environment,
³Yamanashi Industrial Technology Center, ⁴Mount Fuji Research Institute, ⁵Showa Pharmaceutical University,
⁶CMIC Bio Research Center)

要 約

腎障害のバイオマーカーとして尿中や血中尿素窒素などが用いられているが、最近では新しいバイオマーカーとして尿中L-FABP (L型脂肪酸結合タンパク質) が臨床で使い始められている。本研究では、腎機能障害を抑制する効果を示す植物等の天然素材を、L-FABPを指標として探索し、それらを活用するための基礎実験を行う。そのために、ヒトのL-FABP発現遺伝子を導入したマウス(L-FABP Tgマウス)を用い、シスプラチン投与腎機能障害モデルマウスを作成した。このモデルマウスを使ってモモ花、モモ摘果、アケビ葉、ウコギ葉、ブナハリタケ、マスタケ、ブルーベリー葉、ブドウ(甲州)葉およびエビスグサ葉の各水抽出エキス末について腎機能障害抑制効果(作用)を検討した。その結果、ウコギ葉、アケビ葉、エビスグサ葉およびブルーベリー葉で腎機能障害抑制効果が確認された。

Abstract

Although such urine and blood urea nitrogen is used as a biomarker for renal disorders, urinary L-FABP (L-type fatty acid binding protein) has been used clinically as a new biomarker recently. Now studies, the natural materials of vegetable or the like indicating an effect of inhibiting renal dysfunction, and searches to have an index of L-FABP, is carried out basic experiments in order to take advantage of them. For this purpose, using a mouse obtained by introducing the L-FABP expressed genes in human (L-FABP Tg mice) to prepare a cisplatin renal dysfunction model mice. Peach flowers using this mouse model, peach fruit thinning, Study akebi leaf, Acanthopanax leaf, Bunaharitake, chicken mushroom, blueberry leaf, grapes (Koshu) renal dysfunction inhibitory effect for each water extract powder of leaves and sickle senna leaves (action) It was. As a result, renal dysfunction inhibitory effect was confirmed in Acanthopanax leaf, chocolate vine leaves, sicklepod leaves and blueberry leaf.

1. 緒 言

病気の診断には血液や尿中の指標(バイオマーカー)が広く用いられている。特に病気の初期症状を高感度に検知するバイオマーカーが重要である。古くから腎機能障害のバイオマーカーとして用いられている血中尿素窒素、血中クレアチニン、尿中タンパク質などは機能障害が亢進した場合に上昇するため、初期症状を診断することができなかった。しかし最近、腎機能障害の原因の一

つである酸化ストレスに着目し、腎機能障害の初期症状を診断するための新しいバイオマーカーが開発されて臨床で用いられ始めている。腎臓が酸化ストレスを受けると、脂質は有害な過酸化脂質に変化する。近位尿細管上皮細胞に存在するタンパク質であるL-FABPは、この過酸化脂質と結びついて体外に排出させる解毒的な機能を持っている。従って、尿中のL-FABPを検出することにより、酸化ストレスに起因する初期の腎機能障害の診断が可能となる。

そこで本研究では、マウスに腎機能障害を誘導する化合物を投与して腎機能障害モデルを作成し、尿中のL-FABPを指標にして、腎機能障害を軽減する成分を含む植物等の探索を行うこととした。しかし、通常のマウスの腎臓ではL-FABPの発現が少ないことが知られている。そこで、ヒト型のL-FABP (hL-FABP) 発現遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (hL-FABP Tgマウス, シミックバイオリサーチセンターで開発) を用いて検討を行った。

2. 実験方法

2-1 原材料の選定

実験に用いる原材料は、山梨県に自生しているもの、ならびに過去の研究において山梨県で栽培可能な植物等から選定した。表1に初年度に原材料として選定した植物15種およびキノコ2種、合計17種を示す。

表1 選定した原材料

種名	部位	備考
アケビ	葉, 蔓	
ウコギ	葉	
ウド	地上部	
ウラルカンゾウ	地上部	
エビスグサ	葉	
ギョウジャニンニク	葉	
コシアブラ	葉	
スペインカンゾウ	地上部	
タケ	稈	
タラノキ	葉	
朝鮮人参	葉	
ブドウ	葉+葉柄, 葉, 葉柄	甲州, ピオーネ
ブナハリタケ	子実体	
ブルーベリー	葉, 果実	
マスタケ	子実体	
モモ	花, 蕾, 摘果	日川(蕾は花粉採取後)
ラベンダー	蕾	



図1 ウコギ



図2 アケビ



図3 モモ

2-2 被検物質の調製

選定した原材料を基に被検物質を調製した。すなわち、原材料を採取後ただちに凍結乾燥してミルで粉碎した粉末を被検物質とした。凍結乾燥には東京理科 FDU-1200およびヤマト科学 DC-401を用いた。原材料が大量にある場合には、いすゞ製真空チャンバーを用いた。得られた被検物質はマイナス5℃の冷凍庫にて保管した。モモ花については、採取後温風乾燥(60℃)にて乾燥し、ミルで粉碎して被検物質とし、同様に冷凍庫で保管した。



図4 凍結乾燥機



図5 真空チャンバー

2-3 被検物質の抗酸化活性値の測定

抗酸化活性値の測定は、ORAC (酸素ラジカル吸収能 Oxygen Radical Absorption Capacity, Oxygen Radical Absorbance Capacity) 法を用いて行った。ORAC法では検体の親水性画分の抗酸化活性値 (H-ORAC) と親油性画分の抗酸化活性値 (L-ORAC) をそれぞれ求めることができる。本研究では、水溶液として動物への投与を想定しているため、親水性画分の抗酸化活性 (H-ORAC) を測定した。すなわち、被検物質0.5～1.0gと珪藻土3gを乳鉢で混ぜ、高速溶媒抽出装置 (ASE-350) で抽出した。抽出溶媒にはMWA溶液 (メタノール：水：酢酸=90：9.5：0.5) を用いた。得られた抽出液は、MWA溶液を用いて50mLにメスアップし、H-ORAC用試料溶液とした。なお高速溶媒抽出装置での抽出条件はstatic time：5分間、flush：60%、purge：60秒間、cycle：3回、temperature：80℃、pressure：1500psiとした。



図6 高速溶媒抽出装置

H-ORAC用試料溶液は37℃に保温したAssay buffer (75mM K₂HPO₄500mLに75mM KH₂PO₄155mLを添加)を用いて適宜希釈し、96穴マイクロプレートに35μLずつ分注した。蛍光試薬 (Assay buffer 25mLに6.0μM Fluorescein stock solution 470μLを添加し37℃に保温) を各ウェルに115μLずつ分注し、10分後37℃に保温したマイクロプレートリーダー (コロナ電気,SH-9000Lab) にて蛍光強度を測定した (Ex.485nm, Em.520nm)。測定後、96穴マイクロプレートを取り出し、Assay bufferで調製したAAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride) 溶液 (31.7mM) を50μL添加後、マイクロプレートリーダーに戻し2分後に測定を再開した。2分間隔で合計90分間蛍光強度の経時変化を測定し、その値からH-ORAC値を算出した。なお、標準試料としてTrolox ((±) 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) を用いた。



図7 マイクロプレートリーダー

2-4 マウスへの投与液の作成

2-4- (1) 水抽出エキス末の調製

被検物質10gを精秤し、蒸留水1リットルを加えてホットスターラー (120℃,600rpm) で2時間攪拌抽出を行った。残渣を取り除くためろ紙 (5A) を用いてろ過を行った。ろ液をロータリーエバポレーターで30mL程度まで濃縮した後、凍結乾燥機で乾燥して水抽出エキス末を作成した。

2-4- (2) エタノール抽出エキス末の調製

被検物質10gを精秤し、エタノール1リットルを加えて振盪機を用いて2時間室温 (20℃) で振盪抽出を行った。残渣を取り除くためろ紙 (5A) を用いてろ過した。ろ液をロータリーエバポレーターで100mL程度まで濃縮し、これに蒸留水100mLを加え、再度ロータリーエバポレーターで30mL程度まで濃縮した後、凍結乾燥機で乾燥してエタノール抽出エキス末を作成した。

2-4- (3) 投与液の調製

健常マウスを用いた抽出エキス末の安全性試験における動物への投与量は2,000mg/kgならびに5,000mg/kgとし、腎機能障害モデルマウスにおける腎機能障害抑制物質のスクリーニング試験では5,000mg/kgとした。どちらも、マウス体重10gあたり0.2mLの割合でゾンデを用いて経口投与した。すなわち、エキス末0.3gあるいは0.75gに蒸留水を加え超音波洗浄機で微細に懸濁した後、3mLにメスアップして、投与液とした。コントロール群には蒸留水を経口投与した。

2-5 健常マウスを用いた抽出物の安全性試験

2-5- (1) 安全性試験-1

抽出物投与の安全性を確認するため、Tgマウスと同系統のマウス (C57BL/6J,オス,7週齢) を用い、一群4匹として実験を行った。すなわち、C57BL/6Jマウスにウコギ葉、モモ花、モモ摘果、アケビ葉、ブナハリタケ、マスタケの水抽出エキス末を2,000mg/kgあるいは5,000mg/kgの投与量で1回強制経口投与し、投与日を0日として4日後まで毎日マウスの観察および体重測定を行った。

2-5- (2) 安全性試験-2

C57BL/6Jマウス(オス,7週齢)を一群5匹として実験を行った。すなわち, C57BL/6Jマウスにブルーベリー葉, エビスグサ葉およびブドウ(甲州)葉の水抽出エキス末2,000mg/kgあるいは5,000mg/kgの投与量で1回強制経口投与し, 投与日を0日として10日後まで毎日マウスの観察および体重測定を行った。エタノール抽出エキス末についても同様の投与量で実験を行う予定であったが, エビスグサ葉のエキス末の量が少なかったため投与量は1,000mg/kgとなってしまった。また, ブドウ葉についても同様の理由で2,000mg/kgのみの投与量となった。コントロール群には蒸留水を同様に投与した。



図8 健常マウス



図9 マウス飼育ケージ

(C57BL/6J, オス, 7週齢)



図10 マウス飼育環境



図11 ゾンデによる強制経口投与



図12 マウスの体重測定の様子

2-6 腎機能障害モデルマウスの作成

2-6- (1) 単回投与

ヒト型L-FABP Tgマウスに腎機能障害を惹起させる条件の検討を行った。すなわち, 惹起物質としてシスプラチンとゲンタマイシンを選び, それぞれの化学物質1回投与による尿中L-FABP量を検討した。

ヒト型L-FABP Tgマウスをそれぞれ代謝ケージに入れ尿を24時間(0日)採取した後, シスプラチンを2.5mg/kgあるいは5.0mg/kgの割合で腹腔内投与した。ゲンタ

マイシンは100mg/kg, 200mg/kg, 400mg/kgの割合で皮下投与した。全てのTgマウスは化学物質投与後代謝ケージに入れさらに尿を24時間(1日)採取した。陰性対照群には, シスプラチンの代わりに生理食塩水を投与した。0日および1日の尿中L-FABP量をエライサを用いて測定した。0日の尿中L-FABP量を100とし, 1日の尿中L-FABP量の割合を算出した。

2-6- (2) 反復投与

Tgマウスをそれぞれ代謝ケージに入れ尿を24時間(0日)採取した後, ゲンタマイシン200mg/kgの割合で1日1回ずつ7日間皮下投与した。Tgマウスは1回目, 2回目, 7回目のゲンタマイシン投与後代謝ケージに入れさらに尿を24時間(1日,2日,7日)採取した。0日の尿中L-FABP量を100とし, 1日, 2日及び7日の尿中L-FABP量の割合を算出した。

2-7 腎機能障害モデルマウスを用いた腎機能障害抑制物質のスクリーニング

2-7- (1) スクリーニング-1

ヒト型L-FABP Tgマウスをそれぞれ代謝ケージに入れ24時間(0日)尿の採取を行った後, シスプラチンを2.5mg/kgの割合で腹腔内投与してさらに24時間(1日)尿の採取を行った。水抽出エキス末から調製した投与液はシスプラチン投与1時間前に5,000mg/kgの割合で経口投与した。一群2匹として, シスプラチン投与前後の尿中L-FABP量をエライサ法で測定して腎機能障害惹起への水抽出エキス末(ウコギ葉, モモ花, モモ摘果, アケビ葉, プナハリタケ, マスタケ)の影響を検討した。また, シスプラチンの代わりに生理食塩水を投与した陰性対照群と, 水抽出エキス末投与の代わりに蒸留水を投与した陽性対照群を設定した。



図13 代謝ケージでの尿サンプルの採取

2-7- (2) スクリーニング-2

スクリーニング-1と同様に, シスプラチン投与による腎機能障害惹起への影響をブルーベリー葉, エビスグ

サ葉およびブドウ(甲州)葉の水抽出エキス末について行った。なお、ブルーベリー葉およびエビスグサ葉の水抽出エキス末群は一群6匹、ブドウ(甲州)葉の水抽出エキス末群は一群3匹で行った。

2-8 ウコギ中ケンフェロール類の分析

ケンフェロール類の分析は標準物質が入手可能な3種類について行った。すなわち、ケンフェロールならびにケンフェロールの配糖体であるアストラガリンとケンフェトリンをUHPLC(WatersUPLC-PDA)で分離して分析を行った。試料約0.1gを遠心用プラスチックチューブ(15mL容量)に精秤し、メタノール(残農分析用MeOH 5000(和光))3mLを加え、攪拌し超音波を5分かけた。遠心分離(3,000rpm, 5分)により得られた上清を、メンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過したものをUPLC分析試料とした。カラムはAtlantis C3(C18)カラム(2.1mm, id \times 150mm, 粒径3 μ m)を用い、分離は水とアセトニトリルのグラジエント条件で行い、検出にはPDAを用いた。分光光度計により、ケンフェロール類の吸収波長が340nmであることから、測定に使用した波長は340nmで行った。さらに256, 350, 370nmの波長についても測定し、ピーク面積より定量を行った。

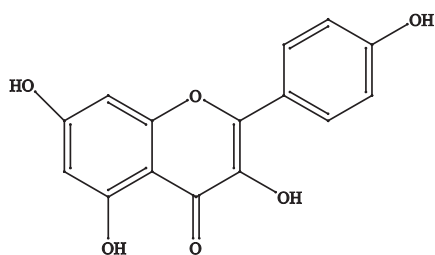


図14 ケンフェロールの構造式

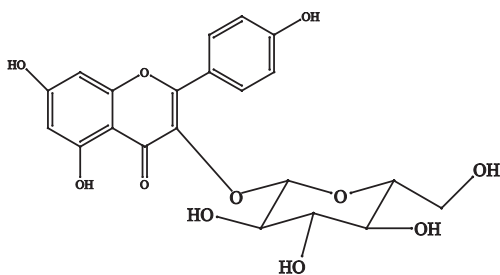


図15 アストラガリンの構造式

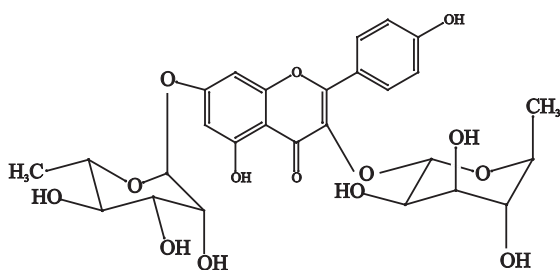


図16 ケンフェトリンの構造式

2-9 マウスへのケンフェロール類の投与実験

C57BL/6Jマウスを一群3~4匹として実験を行った。すなわち、C57BL/6Jマウスにケンフェトリン、アストラガリンおよびケンフェロールを32mg/kgの投与量でそれぞれ1回強制経口投与し、投与日を0日として10日後まで毎日マウスの観察および体重測定を行った。

ヒト型L-FABP Tgマウスをそれぞれ代謝ケージに入れ24時間(0日)尿の採取を行った後、シスプラチンを2.5mg/kgの割合で腹腔内投与してさらに24時間(1日)尿の採取を行った。シスプラチン投与1時間前にケンフェトリン、アストラガリンおよびケンフェロールを32mg/kgの割合で、それぞれ経口投与した。一群3匹として、シスプラチン投与前後の尿中L-FABP量をエライサ法で測定して腎機能障害惹起へのケンフェトリン、アストラガリンおよびケンフェロールの影響を検討した。また、陽性対照としてシスプラチン単独投与群、陰性対照として蒸留水投与群を設定した。

3. 結果と考察

3-1 被検物質の抗酸化活性値-1

L-FABPは腎臓が酸化ストレスを受けると尿中に排出されることから、抗酸化活性物質の存在がL-FABPの増減に影響を与えられられる。そこで、被検物質の抗酸化活性値を測定した(表2)。

表2 被検物質のH-ORAC値1

種名	部位	H-ORAC値 (μ mol of TE/g粉末)	備考
ウコギ	葉	1568	葉
モモ	花	1109	
モモ	蕾	1041	花粉採取後
アケビ	葉	1009	
スペインカンゾウ	地上部	679	
ウラルカンゾウ	地上部	663	
ウド	地上部	632	
朝鮮人参	葉	548	
タラノキ	葉	400	
アケビ	蔓	337	
ラベンダー	蕾	305	
コシアブラ	葉	240	
モモ	摘果	187	
ギョウジャニンニク	葉	158	
タケ	稈	127	
ブナハリタケ	子実体	64	
マスタケ	子実体	41	

ウコギ(葉)、モモ(花、蕾、花弁、摘果)、アケビ(葉)、スペインカンゾウ(地上部)、ウラルカンゾウ(地上部)、ウド(地上部)、朝鮮人参(葉)、タラノキ(葉)、アケビ(蔓)、

ブナハリタケ、マスタケについて、ORAC試験を行い、抗酸化活性値を算出した。その結果を表2に示す。ウコギ葉の抗酸化活性値は1568 μ mol TE/gと高い値を示した。続いて、モモ花、モモ蕾、アケビ葉であった。酸化ストレスはいくつものラジカルや活性酸素種によって引き起こされる。ORAC試験はDPPHラジカル消去能を検査する方法であるため、ORAC値は抗酸化活性のひとつの指標であるが、全ての酸化ストレスを抑制する指

標ではない。そこで、表2の結果とこれまでの経験からウコギ葉、モモ花、モモ摘果、アケビ葉、ブナハリタケ、マスタケを選び、動物実験を行うことにした。

3-2 健常マウスを用い抽出物の安全性試験-1

健常マウスにウコギ葉、モモ花、モモ摘果、アケビ葉、ブナハリタケ、マスタケの水抽出エキス末を2,000mg/kgおよび5,000mg/kgの割合で経口投与し、4日間毎日

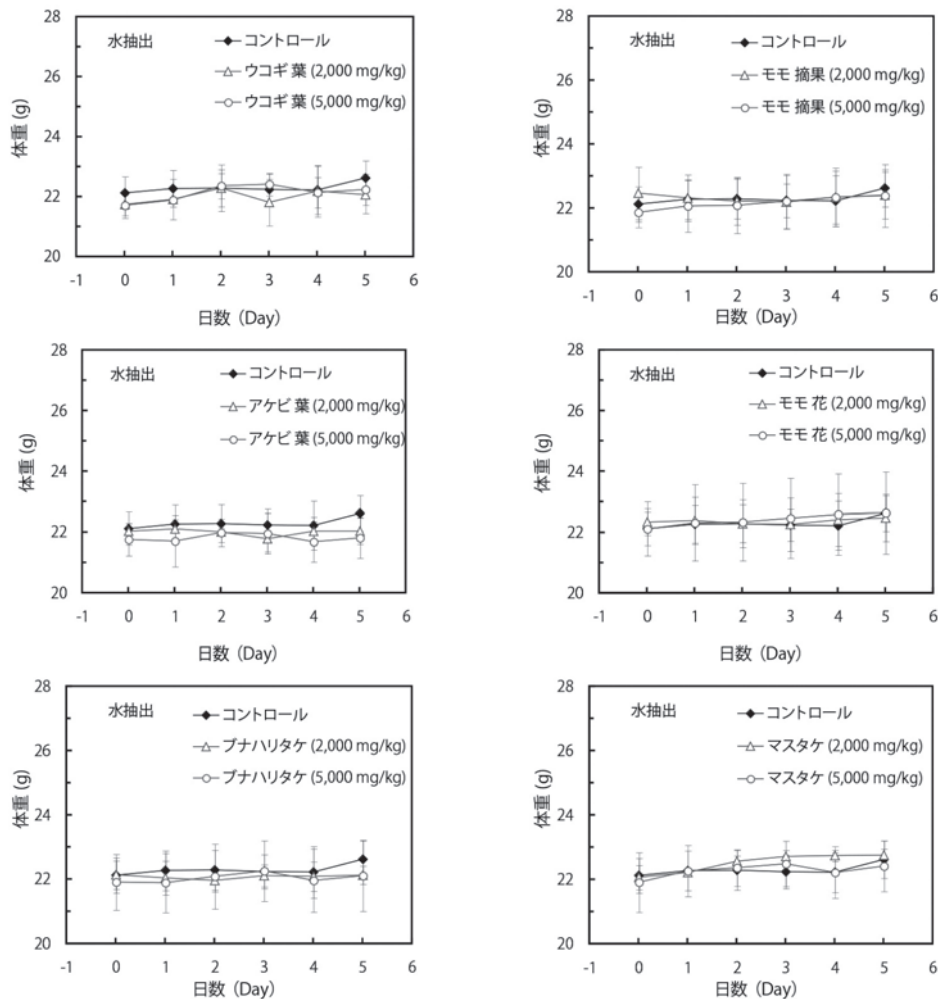


図17 水抽出エキス末の安全性確認試験（動物の体重変化）1

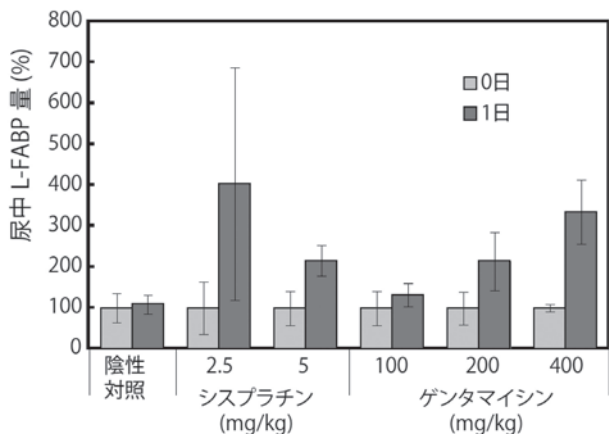


図18 惹起物質および投与量の検討

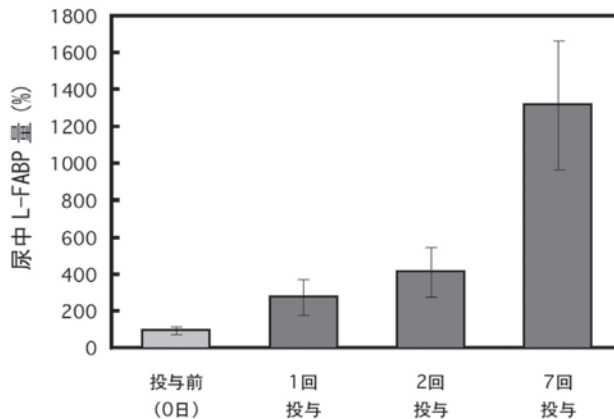


図19 ゲンタマイシン反復投与による尿中L-FABP量

動物の行動および体重の測定を行った。体重を測定した結果を図17に示す。全ての水抽出エキス末において2,000mg/kgおよび5,000mg/kgを投与しても動物の体重は蒸留水を投与したコントロール群と有意な差は認められなかった。また、全ての動物において、異常な行動や脱毛、下痢などの症状は認められなかった。これらの結果から、ウコギ葉、モモ花、モモ摘果、アケビ葉、ブナハリタケ、マスタケの水抽出エキス末を5,000mg/kgの投与量でマウスに経口投与しても毒性が示されないことが明らかとなった。

3-3 腎機能障害モデルマウスの作成

ヒト型L-FABP Tgマウスに腎機能障害を惹起させる条件の検討を行った。すなわち、惹起物質としてシスプラチンとゲンタマイシンを選び、それぞれの化学物質1回投与によるL-FABPの影響を検討した。

化学物質投与前24時間の尿中L-FABP量に対する、化学物質投与後24時間の尿中L-FABP量の割合を図18に示す。シスプラチン2.5mg/kg投与により尿中L-FABP量が4倍(400%)にまで上昇することが認められた。シスプラチン5.0mg/kg投与群ではマウスが1匹死亡した。生き残った動物の尿中L-FABP量は2.5mg/kg投与群に比べ低かった。尿中L-FABPは腎臓への比較的軽度な酸化ストレスに起因する障害の指標である。従って、シスプラチン5.0mg/kg投与により腎臓に、酸化ストレス以外のメカニズムにより障害が起きたことが考えられた。ゲンタマイシン投与では100mg/kg、200mg/kg投与群とも有意に尿中L-FABP量を上昇させることはできなかった。400mg/kg投与群はマウスが1匹死亡し、生存した動物の尿中L-FABP量は3倍(300%)にまで上昇した。ゲンタマイシン1回投与では動物を死亡させることなく尿中の尿中L-FABP量を上昇させることができなかった。反復投与の検討を行った。ゲンタマイシンの投与量を200mg/kgとし、1日一回ずつ7日間反復投与を行った。その時の尿中L-FABP量を図19に示す。ゲンタマイシン200mg/kgを7回反復投与すると、尿中L-FABP量が有意に上昇することが明らかとなった。しかし、反復投与のモデルを用いた場合、被検物質(エキス末)の投与タイミングを選定することが非常に難しくなる。そこで、バラツキは大きい1回投与で尿中L-FABP量が上昇するシスプラチン2.5mg/kgを用いて腎機能障害モデルマウスを作成することにした。

3-4 腎機能障害モデルマウスを用いた腎機能障害抑制物質のスクリーニング-1

健康マウスを用いて安全性試験で安全が確認されたウコギ葉、モモ花、モモ摘果、アケビ葉、ブナハリタケ、マスタケの水抽出エキス末を5,000mg/kgの投与量で、シスプラチンで誘導した腎機能障害モデルマウスに投与

して、これらエキス末の腎機能障害抑制効果を検討した。シスプラチン投与前の尿中L-FABP量を100として、シスプラチン投与後の尿中L-FABP量に対する各種水抽出エキス末の影響を検討した結果を図20に示す。ウコギ葉、アケビ葉の水抽出エキス末を投与した動物において、尿中L-FABP量が陰性対照レベルにまで減少した。ウコギ葉とアケビ葉のORAC値は1568 $\mu\text{mol TE/g}$ 、1009 $\mu\text{mol TE/g}$ と高い値を示していたので、これらエキス末の抗酸化活性が関与している可能性が考えられた。モモ花はORAC値が1109 $\mu\text{mol TE/g}$ と1000を超していたが、動物実験では腎機能障害抑制作用は示されなかった。

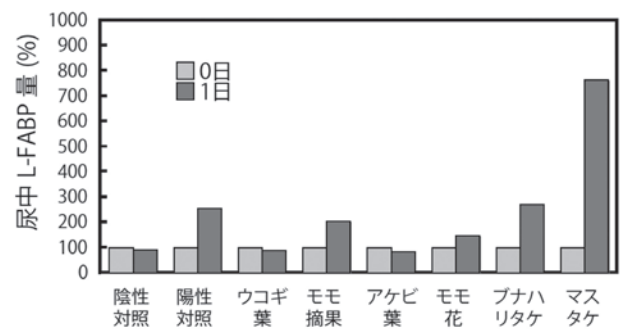


図20 各種水抽出エキス末の腎機能障害抑制効果の検討

3-5 被検物質の抗酸化活性値-2

これまでの検討結果からウコギ葉およびアケビ葉において、腎機能障害抑制効果のある可能性が示された。そこで、さらに可能性のある原材料の候補を増やすため、ブルーベリー(葉、枝、果実)、ブドウ(甲種、ピオーネ;葉、枝、葉柄)、エビスグサ(葉)について抗酸化活性を測定した。その結果を表3に示す。ブルーベリー葉のORAC値は2426 $\mu\text{mol TE/g}$ とウコギ葉より高い値であった。そこで、ブルーベリー葉、エビスグサ葉、そしてブドウを代表してブドウ(甲州)葉を選び、動物実験を行うことにした。

表3 被検物質(ブルーベリー、ブドウ、エビスグサ)のH-ORAC値

種名	部位	H-ORAC値 ($\mu\text{mol of TE/g}$ 粉末)	備考
ブルーベリー	葉	2871	
ブドウ	葉+葉柄	1186	甲州
ブドウ	葉	1081	甲州
ブドウ	葉柄	624	甲州
ブドウ	葉	837	ピオーネ
ブドウ	葉+葉柄	797	ピオーネ
エビスグサ	葉	543	
ブドウ	葉柄	379	ピオーネ
ブルーベリー	果実	267	

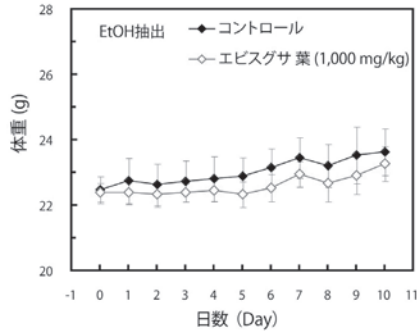
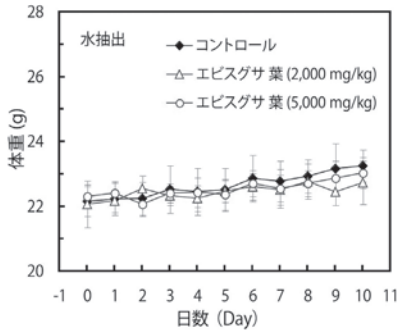
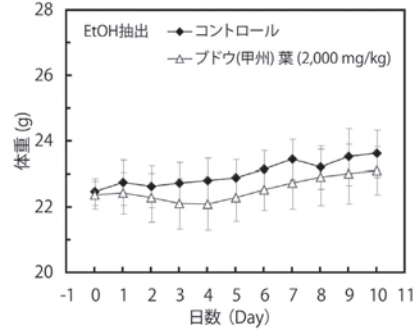
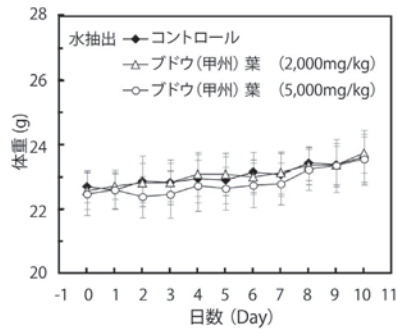
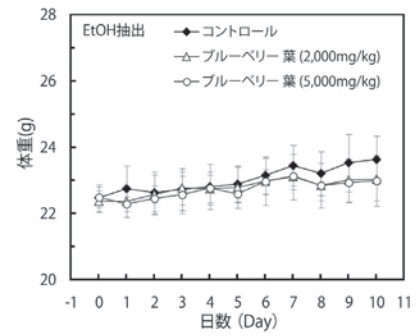
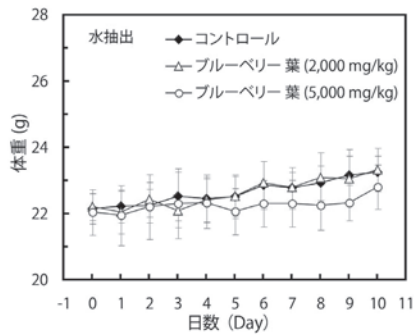


図21 水抽出エキス末の安全性確認試験（動物の体重変化）

図22 エタノール抽出エキス末の安全性確認試験（動物の体重変化）

3-6 健常マウスを用いた抽出物の安全性試験-2

健常マウスにブルーベリー葉、ブドウ（甲州）葉、エビスグサ葉の水抽出エキス末を2,000mg/kgおよび5,000mg/kgの割合で経口投与し、10日間毎日動物の行動および体重の測定を行った。さらにエタノール抽出エキス末も調製してマウスに投与した。ただし、ブドウ（甲州）葉とエビスグサ葉のエタノール抽出エキス末は、比較的量が確保できなかったため、投与量がそれぞれ2,000mg/kgと1,000mg/kgになってしまった。水抽出エキス末を投与した動物の体重変化を図21に、エタノール抽出エキス末を投与した動物の体重変化を図22に示す。いずれも蒸留水を投与したコントロール群と比べて有意な差は認められなかった。これらの結果から、ブルーベリー葉、ブドウ（甲州）葉、エビスグサ葉の水抽出エキス末、およびエタノール抽出エキス末の毒性は低いと考えられた。

3-7 腎機能障害モデルマウスを用いた腎機能障害抑制物質のスクリーニング-2

ブルーベリー葉、ブドウ（甲州）葉、エビスグサ葉の水抽出エキス末を5,000mg/kgの投与量で、シスプラチンで

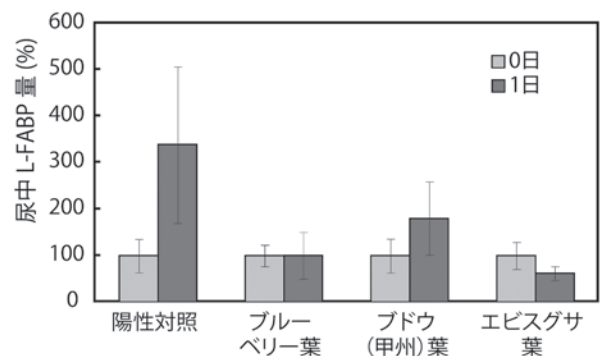


図23 3種類の水抽出エキス末（ブルーベリー、ブドウ、エビスグサ）の腎機能障害抑制効果の検討

誘導した腎機能障害モデルマウスに投与して、これらエキス末の腎機能障害抑制効果を検討した。その結果を図23に示す。尿中L-FABP量はシスプラチンを投与した陽性対照に比べドウドウ(甲州)葉、ブルーベリー葉、エビスグサ葉の順に減少することが示された。特にエビスグサ葉では78%までに減少した。エビスグサ葉のORAC値は543 $\mu\text{mol TE/g}$ と1000に満たないが、動物実験では腎機能障害抑制作用がある可能性が示された。ブルーベリー葉のORAC値は2871 $\mu\text{mol TE/g}$ と最も高かったが、動物実験の結果ではエビスグサ葉に劣る結果となった。

3-8 ウコギ中ケンフェロール類の分析ならびに抗酸化活性

ウコギ³⁾モモ花⁴⁾には、ケンフェロールおよびその配糖体が含まれていることが知られている。また、ケンフェロール類には、抗酸化活性があることが判明している⁵⁾。そこで、これらの成分のORAC値を測定した。表4にそれぞれのORAC値を示す。ケンフェリトリンのORAC値は20938 $\mu\text{mol TE/g}$ と非常に高い値であった。さらに、アストラガリンは17372 $\mu\text{mol TE/g}$ 、ケンフェロールで2615 $\mu\text{mol TE/g}$ であった。

表4 ケンフェロール類およびグルタチオンのH-ORAC値

物質名	H-ORAC値 ($\mu\text{mol of TE/g}$ 粉末)
ケンフェリトリン	20938
アストラガリン	17372
ケンフェロール	2615
グルタチオン還元型	3149

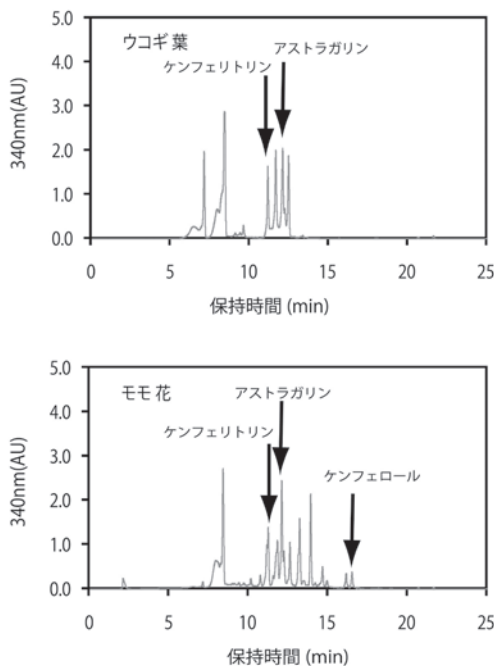


図24 ウコギ葉およびモモ花中のケンフェロール類のクロマトグラム

そこで、今回実験に用いたウコギ葉を用いて、ケンフェロール類の分析を行った(図24, 表5)。また、モモ花についても同様に分析してウコギ葉と比較検討した。ウコギ葉中にはアストラガリンが0.21mg/g、ケンフェリトリンが0.19mg/g含まれており、ケンフェロールは検出できなかった。これに対して、モモ花ではアストラガリンが0.04mg/g、ケンフェリトリンが0.02mg/g、ケンフェロールが0.01mg/g検出された。従って、ウコギ葉の方がモモ葉よりアストラガリンが5倍、ケンフェリトリンが10倍多く含まれていることがわかった。

表5 ウコギおよびモモ花中のケンフェロール類の含量

物質名	含有量(mg/g)	
	ウコギ葉	モモ花
ケンフェリトリン	0.19	0.02
アストラガリン	0.21	0.04
ケンフェロール	N.D.	0.01

3-9 マウスへのケンフェロール類の投与実験

ウコギ葉に含まれるケンフェリトリンおよびアストラガリン、ならびにケンフェロールを腎機能障害モデルマウスに投与した場合の腎機能障害抑制作用について検討した。まず、腎機能障害モデルマウスを用いる前にケンフェリトリン、アストラガリン、ケンフェロールを健常マウスに投与して安全性の検討を行った。32mg/kgの投与量で3つの化合物をマウスに一回経口投与して10日間体重の変化を測定した。全ての化合物で、体重はコントロール群と有意な違いは認められなかった(図25)。

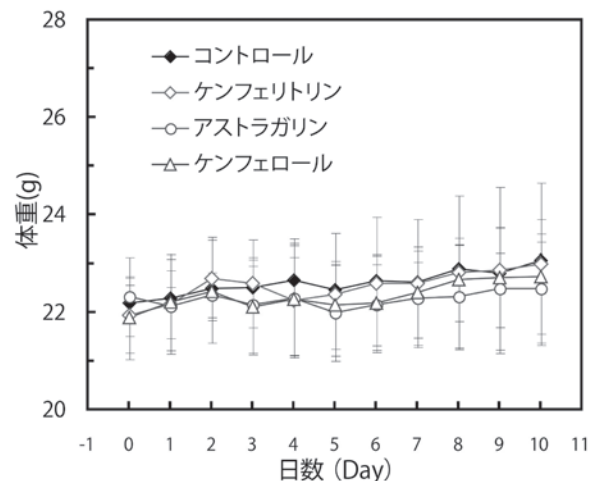


図25 ケンフェロール類の安全確認性試験

そこで、腎機能障害モデルマウスを用いて、尿中L-FABP量を指標にして、3つの化合物の腎機能障害抑制効果を検討した。その結果を図26に示す。アストラガリン投与群ではシスプラチンのみを投与した陽性対照と同程度の尿中L-FABP量であった。ケンフェリトリン

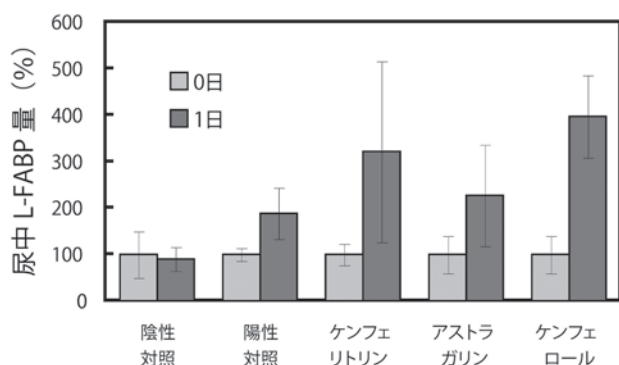


図26 ケンフェロール類の腎機能障害抑制効果の検討

とケンフェロールを投与した場合、尿中L-FABP量は陽性対照群より高くなることが示された。これらの結果から、32mg/kgのアストラガリン、ケンフェリトリンならびにケンフェロールには腎機能障害抑制効果は示されないことが明らかとなった。

4. 結 言

- 山梨県に由来のある植物等について抗酸化活性の指標であるORAC値を計測したところ、ブルーベリー葉、ウコギ葉、ブドウ葉、モモの花等で高い値が得られた。
- 腎機能障害モデルマウスを用いて尿中L-FABPを指標にして腎機能障害抑制作用を調べた。その結果、ウコギ葉、アケビ葉、ブルーベリー葉、エビスグサ葉、ブドウ（甲州）葉の水抽出エキスで腎機能障害抑制効果が確認された。
- 植物などに含まれていることが知られており、ORAC値が高いケンフェロール類について、ウコギ葉とモモ花で分析を行った。その結果、ウコギ葉にはケンフェロールの配糖体であるアストラガリンとケンフェリトリンが、モモ花にはケンフェロール、アストラガリン、ケンフェリトリンの3種類が含まれていることが確認された。
- ケンフェロール類を腎機能障害モデルマウスに投与したところ、腎機能障害抑制効果は確認されなかった。
- 腎機能障害モデルマウス作成における腎機能障害の強さにバラツキが多いこと等データに不安定要素がある。このことから、今後評価方法について再考し、安定した結腎機能障害モデルマウスの作成方法および腎機能抑制評価方法を考える必要がある。

参考文献

- 1) Kawai Y. : Bulletin of Osaka University of Pharmaceutical Sciences. 1, 129-134 (2007)
- 2) Conklin K.A. : Nutrition and Cancer. 37, 1-18 (2000)

- 3) 戸沢 一宏:山梨県森林総合研究所 事業報告, 28-29, (2011)
- 4) 田中 咲穂, 北島 潤一, 昭和薬科大学漢方治療学教室卒業論文集,62-96 (2014)
- 5) Calderón-Montaño J.M., Burgos-Morón E., Pérez-Guerrero C., López-Lázaro M.:Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 11, 298-344 (2011)

環境負荷低減のための豚の飼料調整に関する 研究

Study on Pig Feed Adjustment to Reduce Environmental Impact

飼料配合を目的とした乳酸菌凍結乾燥粉末の調製

長沼 孝多¹・古屋 元宏²・佐藤 憲亮¹・長坂 克彦³・柳田 藤寿⁴・乙黒 美彩⁴・小西 啓太⁴・木村 英生¹
(¹工業技術センター・²畜産試験場・³総合農業技術センター・⁴山梨大学ワイン科学研究センター)

Study of a Method for Making Freeze-Dried Lactic Acid Bacteria Powder to Blend with Pig Feed.

Kota NAGANUMA¹, Motohiro FURUYA², Kensuke SATO¹, Katsuhiko NAGASAKA³,
Fujitoshi YANAGIDA⁴, Misa OTOGURO⁴, Keita KONISHI⁴, Hideo KIMURA¹

¹Yamanashi Industrial Technology Center, ²Yamanashi Prefectural Livestock Experiment Station,

³Yamanashi Prefectural Agritechology Center, ⁴The Institute of Enology and Viticulture in Yamanashi University

要約：養豚用飼料に乳酸菌を配合するため、乳酸菌の培養条件および凍結乾燥条件を検討した。試験菌として *Lactobacillus plantarum* NBRC3070株を使用した。菌数は、培養後24時間で定常期となった。乳酸菌を凍結乾燥する際の賦形剤として、乳糖粉末を用いることで常温保存時の菌数減少を抑えることができた。以上の条件を参考に、山梨大学が分離した乳酸菌6S35M311株を培養し凍結乾燥粉末を調製した。凍結乾燥粉末の菌数は 3.7×10^8 個/gで、豚への給与試験に使用可能であった。

Abstract : We consider a method for making freeze-dried lactic acid bacteria powder to blend with pig feed. On trial, we use *Lactobacillus plantarum* NBRC3070 for preparation the powder experimentally. It arrives at stationary phase after 24 hour of cultivation on Jar fermenter. Lactose powder is best for diluent base of freeze dehydration. Freeze-dried powder made from 6S35M311 that was lactic acid bacteria strain isolated from silage by Yamanashi University, is usable in examination of feeding.

1. 緒言

山梨県の養豚は、昭和34年の台風災害時に米国アイオワ州から贈られた種豚および飼育技術から発展したものである。例えば本県の代表的なブランド豚として発展が期待される、「甲州富士桜ポーク」は、同州から導入された種豚の系統豚「フジザクラ」に、本県畜産試験場が開発した合成系統豚を交配して生産されたものであり、きめ細やかな肉質と良質な脂肪などが特徴である。

しかし、全国的に、養豚を担う畜産農家は、家畜排せつ物の管理・処理で発生する悪臭¹⁾や、窒素・重金属等の環境への排出および飼料への抗菌性物質添加による薬剤耐性菌の出現などの環境負荷問題を抱えている。特に本県は平地が少ないことから、養豚場が住環境に近く、その解決は喫緊といえる。

一般に、排せつ物の臭気低減には農場内の施設配置の改善や敷料利用¹⁾などの手法が挙げられるほか、長谷川ら²⁾がブドウ搾り滓による堆肥化時の臭気低減を認めている。一方、飼料に着目した手法³⁾として、飼料への乳酸菌製剤の添加による臭気低減⁴⁾などが報告されている。

本研究では、養豚農家がコストや労力をかけず、豚排

せつ物の環境負荷を低減する方法として、豚飼料への乳酸菌製剤添加を検討する。本報では、ブドウ滓サイレージから分離された乳酸菌(山梨大学で実施)を、粉末状の乳酸菌製剤へと加工する方法について検討した。

2. 実験方法

2-1 供試菌株

標準乳酸菌として *Lactobacillus plantarum* NBRC3070株を用いた。なお *L. plantarum* は、サイレージ等から検出⁵⁾事例がある乳酸菌である。本試験で供試した分離乳酸菌は、乳酸桿菌と推察される6S35M311株を用いた。

2-2 使用培地

L. plantarum NBRC3070株および6S35M311株の前培養および大量培養の培地は、MRS液体培地(Becton Dickinson Microbiology Systems社製)を用いた。

2-3 分析法

乳酸菌数の計測は、BCP加プレートカウントアガール(日水製薬社製)を用い、嫌気ジャーおよび酸素吸収・炭酸ガス発生剤(アネロパック・ケンキ、三菱ガス化学

社製)で嫌気培養したものを使用した。

乳酸量の定量は、高速液体クロマトグラフを使用した。クロマトグラフの条件を表1に示した。

表1 乳酸の定量条件 (高速液体クロマトグラフ)

方式	ポストカラムpH緩衝法
ポンプ	LC-10AD (島津製作所社製) × 2
検出器	CDD-6A 電気伝導度検出器 (島津製作所社製)
カラム	Shim-pack SCR-102H φ8.0×300mm
溶離液	5mM ρ-トルエンスルホン酸
反応液	5mM ρ-トルエンスルホン酸 20mM Bis-Tris 100mM EDTA
カラム温度	40℃
流速	0.6ml/min

2-4 供試乳酸菌の大量培養および回収

供試乳酸菌の大量培養は、ジャーファメンター (MDL-6C, 丸菱バイオエンジニアリング社製) を用いた。MRS液体培地を用い、4Lスケール、培養温度35℃、pH5.8、回転75rpmに設定して最長74時間培養した。なお、培養液から適宜菌液を採取し、乳酸菌数の計測および乳酸の定量に用いた。

培養液からの乳酸菌の回収は、高速冷却遠心機 (CR-22G III, 日立工機社製) を使用し、培養液を8,000rpm、10℃、15分遠心して沈殿を回収した。沈殿の回収が不十分な場合は、容器を変更しさらに14,000rpm、5℃、20分遠心した。

2-5 供試乳酸菌の凍結乾燥粉末の調製

供試乳酸菌の凍結乾燥粉末の調製法は、回収した乳酸菌と賦形剤を混合し、凍結乾燥する方法とした。

賦形剤は、乳糖(ラクトース一水和物, 和光純薬製)を使用し、粉末あるいは10%水溶液として使用した。凍結乾燥は、乳酸菌と賦形剤を混合した後、-80℃で一晩凍結し、凍結乾燥機 (FDU-2200, 東京理化社製) で実施した。なお、凍結乾燥後の試料に塊が認められる場合は、振動式破砕機 (TI-100, アルミナ製容器, CMT社製) で5分間処理し、粉砕した。

3. 結果

3-1 *L. plantarum* NBRC3070株の大量培養

分離乳酸菌に先立ち、標準乳酸菌とした*L. plantarum* NBRC3070株を使用して、大量培養および凍結乾燥粉末調製の条件を検討した。

図1に、ジャーファメンターにおける*L. plantarum* NBRC3070株の増殖曲線を示した。*L. plantarum* NBRC3070株の菌数は、培養開始24時間後に 6.3×10^9 個/ml、28時間後に 6.7×10^9 個/mlとなり、以後58時

間後まで大きく変化しなかったことから、定常期に達したと考えられた。

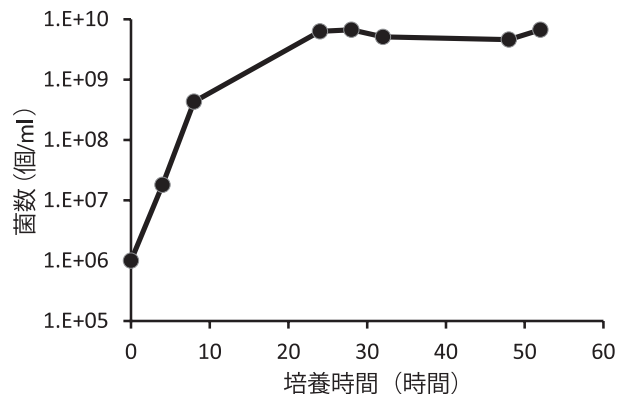


図1 *L. plantarum* NBRC3070株の増殖曲線

また、最大菌数の増加を目的として、培養開始25時間後と48時間後に培地成分の追加を行ったが、増加は特に認められなかった(データ省略)。

以上の結果から、ジャーファメンターを使用した乳酸菌の大量培養は、培養開始24時間後に定常期に達するものと仮定し、24時間後に乳酸菌を回収して凍結乾燥粉末の調製に用いた。

3-2 *L. plantarum* NBRC3070株の凍結乾燥粉末の調製

L. plantarum NBRC3070株の凍結乾燥粉末について、賦形剤を乳糖粉末で調製した結果を図2に、乳糖10%水溶液で調製した結果を図3に示した。

凍結乾燥粉末は、賦形剤が乳糖粉末の場合はやや硬質の塊になる傾向が認められ、豚飼料に混合する際には粉砕処理が必要と考えられた。

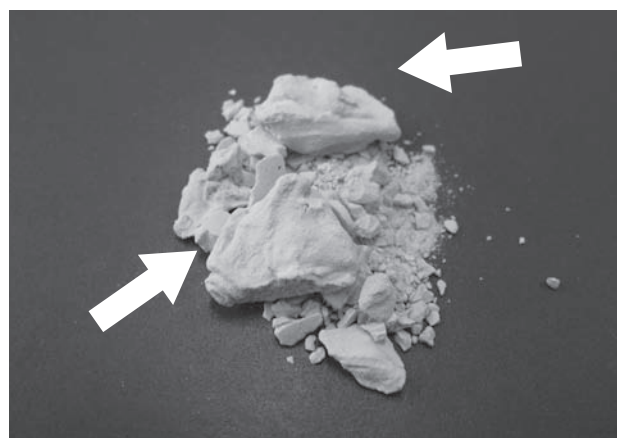


図2 乳糖粉末を賦形剤とした場合の*L. plantarum* NBRC3070株の凍結乾燥粉末 (矢印: 硬質の塊)

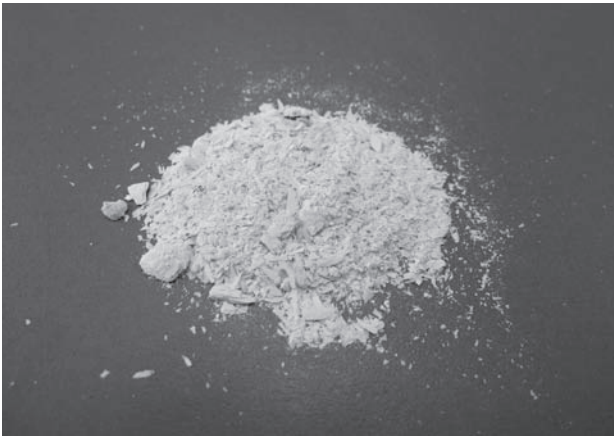


図3 乳糖10%水溶液を賦形剤とした場合の *L. plantarum* NBRC3070株の凍結乾燥粉末

また、凍結乾燥粉末およびその常温1ヶ月保存後の菌数を表2に示した。凍結乾燥粉末の菌数は、どちらも調製後は 10^{11} 個/gオーダーあったが、常温1ヶ月保存後は減少した。減少は、賦形剤に乳糖10%水溶液を使用したものと比較し、乳糖粉末を使用したものは顕著に抑えられていた。

以上の結果から、乳酸菌の凍結乾燥粉末の調製には、賦形剤として乳糖粉末を使用した。

表2 賦形剤の違いによる凍結乾燥粉末の菌数の違い (*L. plantarum* NBRC3070株, 調製後および常温1ヶ月後)

<i>L. plantarum</i> NBRC3070 凍結乾燥粉末	調製後	常温1ヶ月保存後
	菌数 (個/g)	
賦形剤: 乳糖粉末	1.2×10^{11}	2.0×10^9
賦形剤: 乳糖10%水溶液	7.5×10^{11}	3.2×10^5

3-3 6S35M311株の大量培養および凍結乾燥粉末の調製

図4に、ジャーファメンターにおける6S35M311株の培養曲線および乳酸量を示した。6S35M311株は、培養開始24時間後に最大菌数 4.9×10^{10} 個/mlとなり、以後74時間後まで 10^{10} 個/ml近い菌数を維持した。乳酸量は、菌数と同様に増加し、最大で1.2 g/100mlであった。

凍結乾燥粉末の調製のため、培養後24時間の菌液を遠心分離で回収した。8,000rpm, 10℃, 15分の遠心は沈殿形成に不十分であったため、滅菌生理食塩水を加えて再懸濁後、14,000rpm, 5℃, 20分遠心した。本処理を2回繰り返して、上清を破棄して149.8gの沈殿を得た。

沈殿と混合する乳糖粉末は、沈殿と当重量(150g)では流動性が高くややゆるい状態であったことから200gとした。混合物は生地様(図5)となり、凍結乾燥したところ、*L. plantarum* NBRC3070株の場合と同様に塊と

なったことから、振動式破砕機で処理し粉末状とした(図6)。凍結乾燥粉末の菌数は 3.7×10^8 個/gで、給与試験に使用可能な菌数であった。

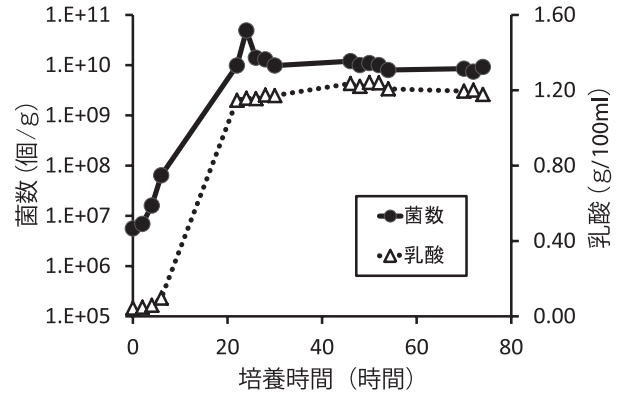


図4 6S35M311株の増殖曲線および乳酸量の推移

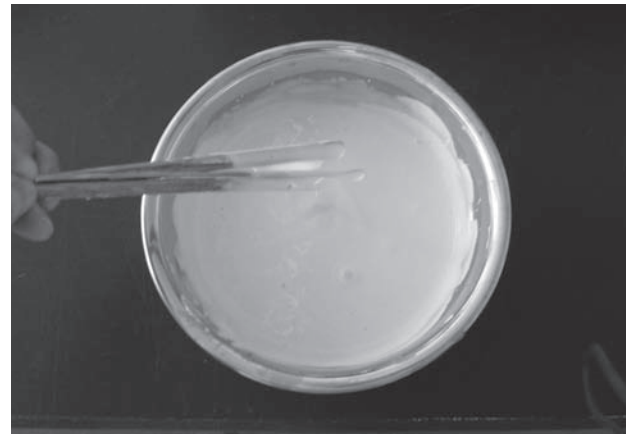


図5 6S35M311株と乳糖粉末の混合の様子



図6 6S35M311株の凍結乾燥粉末

4. 考察

本研究の目的は、養豚用試料に乳酸菌を配合するため、乳酸菌の大量培養条件および乳酸菌の粉末化条件を明らかにすることである。標準乳酸菌として使用した*L.*

plantarum は、スイートソルガムサイレージからの検出事例⁵⁾もある乳酸菌であり、ブドウ滓サイレージからの乳酸菌分離が行われるまでの指標とした。

乳酸菌の大量培養は、ジャーファメンターを使用して pH5.8 に制御し、35℃ で培養することで実施可能であった。本条件は一般的な乳酸菌の培養条件とほぼ等しく、*L. plantarum* NBRC3070 株および 6S35M311 株のどちらにも適用できることが確認された。

一方、培養時の最大菌数は、*L. plantarum* NBRC3070 株は 10⁹ 個/ml オーダーであったが、6S30M311 株は 10¹⁰ 個/ml オーダーであり違いが認められた。3-1 で示したとおり、*L. plantarum* NBRC3070 株の菌数には流加培養の効果が認められなかったことから、培地成分の欠乏が原因の可能性は低いものと考えられた。他方、遠心分離において *L. plantarum* NBRC3070 株が沈殿となった条件においても 6S35M311 株は沈殿になりにくかった (図5 参考) ことから、最大菌数の違いは菌体の大きさあるいは密度によるものと推察された。なお、今回は記載しなかったが、6S35M311 株と同じくブドウ滓サイレージ分離乳酸菌である 6S35M314 株は、最大菌数が 10⁹ 個/ml オーダーであり、遠心分離において *L. plantarum* NBRC3070 株と近い挙動を示すと考えられた。

市販の乳酸菌製剤には乳糖⁶⁾ やデキストリン⁷⁾ が含まれ、その多くが凍結乾燥により調製されていると推察された。乳糖やデキストリンは、微生物を粉末状とする賦形剤であるが、乳糖は凍結乾燥時の分散媒⁸⁾ としての働きもあることに加え、菌液に混合する乳糖としての量により保存時の菌数減少が抑えられた (表2) ことから、保護剤としての働きも期待できると考えられた。ただし、通常は 10% 程度の水溶液で使用するものであり、凍結乾燥の容易さや粉末の細かさは 10% 水溶液で調製したものの方がより良好であった。

以上の方法により、乳酸菌凍結乾燥粉末の調製が可能であることがわかった。一方で、本法は培養機や凍結乾燥機が必要である点が難点である。飼料への乳酸菌混合を普及のためには、より簡易的な手法の検討が必要と考えられた。

5. 結 言

1. 養豚用飼料に乳酸菌を配合するため、乳酸菌の培養条件および凍結乾燥条件を明らかにした。
2. 培養は、ジャーファメンターを使用し、35℃、pH5.8 に制御して攪拌することで、10⁹ ~ 10¹⁰ 個/ml の菌数が得られた。
3. 凍結乾燥の保護剤は、乳糖粉末が適当であった。

参考文献

- 1) (一社)日本家畜輸出入協議会 畜産臭気問題の現状と対策 (http://www.jlta.or.jp/news/image/seminar2012/jltaseminar2012_msyamamoto.pdf (2015/3/31 アクセス))
- 2) 長谷川達也, 森智和, 吾郷健一, 菊嶋敬子, 山崎修平, 上垣良信, 寺澤章裕, 御園生拓, 金子秀廣, 早川正幸: 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 5, P.1-19 (2010)
- 3) 中江利孝: 日本畜産学会報, 57(4), P.279-287 (1986)
- 4) 古川陽一: 岡山県総合畜産センター研究報告, 10, P.23-32 (1999)
- 5) 木内幹, 森江京子: 食品総合研究所報告, 55, P.19-23 (1991)
- 6) 柏崎守, 三谷賢治, 波岡茂郎: 日本養豚研究会誌, 8(2), P.67-70 (1971)
- 7) カルピス株式会社 「ファインラクト (子豚用)」商品説明 (<http://www.calpis.co.jp/feed/pig/pig00202.html> (2015/3/31 アクセス))
- 8) 根井外喜男: 微生物の保存法, 東京大学出版会 (1977)

ブドウ滓サイレージからの乳酸菌の分離とその性質

乙黒 美彩¹・小西 啓太¹・長沼 孝多²・佐藤 憲亮²・木村 英生²・長坂 克彦³・古屋 元宏⁴・柳田 藤寿¹
(¹山梨大学ワイン科学研究センター・²工業技術センター・³総合農業技術センター・⁴畜産試験場)

Isolation and Characterization of Lactic acid bacteria from wine by-products

Misa OTOGURO¹, Keita KONISHI¹, Kota NAGANUMA², Kensuke SATO², Hideo KIMURA², Katsuhiko NAGASAKA³,
Motohiro FURUYA⁴, Fujitoshi YANAGIDA¹

(¹The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi, ²Yamanashi Industrial Technology Center,

³Yamanashi Prefectural Agritechology Center, ⁴Yamanashi Prefectural Livestock Experiment Station)

要約：悪臭の低減効果が期待される乳酸菌を取得する目的でブドウ滓サイレージから乳酸菌の分離を試みた。カタラーゼ活性試験，グラム染色試験，乳酸生成試験を行い，総計で164株の乳酸菌を分離した。16S rDNAの塩基配列解析を行い，101株の同定を行ったところ，*Lactobacillus*属77株，*Leuconostoc*属6株，*Pediococcus*属1株，*Weissella*属10株，未同定7株が認められた。分離株164株の抗菌活性試験では13株に活性が認められ，このうち2株がバクテリオシン様の抗菌物質を生産することが示唆された。

Abstract : Total 164 lactic acid bacterial strains were isolated from wine by-products collected at silo in the Kobayashi farm in Kai-shi. Based on 16S rRNA gene sequences analysis, the genera *Lactobacillus*, *Weissella* and *Leuconostoc* were identified as main genera in marc silage. Thirteen strains among isolates were showed antibacterial activity. Strains 6S35M314 and 6S35B315 probably produced bacteriocin-like agents.

1. 緒言

乳酸菌は糖を発酵して多量の乳酸を生産する細菌の総称で，乳酸発酵による飲料のみならず，保存性の良い乳製品や食品の香味や芳香にも乳酸菌が関与している。長年に渡り人間の生活と密接にかかわってきた乳酸菌であるが，近年では食品分野だけでなく，医療分野においても注目を集めている。また家畜飼料(サイレージ)の貯蔵などにも寄与し，幅広い利用性のある有用微生物である。

サイレージは牧草などの飼料作物をサイロに詰め，乳酸発酵させた家畜の貯蔵飼料であり，発酵によって乳酸，酢酸といった物質が発生し，腐敗菌やタンパク分解菌の活動を抑えるため，飼料の長期にわたる貯蔵が可能になる。また，発酵で生じた有機酸は，家畜にとって重要な栄養源であり，食欲をそそる香りをたてるため，家畜の食欲を増進させる。この発酵品質には多くの微生物が関与するが，その一番の担い手が乳酸菌である。

本研究では，豚のふん尿等から発生する悪臭を低減する機能を有する乳酸菌を含有する低タンパク質飼料を開発するために，ブドウ滓サイレージより乳酸菌を分離し，

サイレージ中の乳酸菌の多様性を解明すること，悪臭低減効果を有する乳酸菌を特定し，その特徴を明らかにすることを目的としている。

2. 実験方法

2-1 ブドウ滓サイレージからの乳酸菌の分離

乳酸菌の分離源として山梨県甲斐市の小林牧場内のバンガーサイロで発酵させたサイレージ飼料を用いた。サンプリングは2013年6月および9月の2回行い，サイロの上層，中層，下層からそれぞれ飼料を採取した。分離方法は希釈平板法および集積培養法を用い，分離培地として，一般的な乳酸菌の培養に用いられるMRS培地(Difco製)，BCP加プレート寒天培地(ニッスイ製)およびGYP培地の3種類を使用した。培養温度は採取時のサイレージの温度から30℃，35℃，40℃に設定し，18通りの組み合わせにより乳酸菌候補株を分離した。なお，希釈平板法は3日間，集積培養法は2-5日間嫌気培養を行った。



図1 サイレージ飼料のサンプリング

2-2 乳酸菌分離株の同定

2-2 乳酸菌分離株の同定

分離株のカタラーゼ活性試験，グラム染色試験および乳酸生成能を調査し，乳酸菌分離株を取得した。また，16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析を行い，BLAST 検索により分離株の菌種同定を行った。

2-3 乳酸菌分離株の抗菌活性試験と抗菌物質の性状解析

分離株の抗菌活性試験は指示菌に *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T を用いアガーウェル拡散法にて試験した。すなわち，40℃～50℃にしたMRS 軟寒天培地 (Agar, 0.5 % w/v) に前培養した *L. sakei* JCM1157^T を接種し，MRS 寒天培地に重層した。培地表面にコルクボーラー ($\phi=5.5$ mm) で穴をあけ，ここに分離株の培養液を遠心分離し，1M NaOH で pH7 に調整後，ろ過滅菌 (0.2 μ m) したろ液を 50 μ l ずつ注入後，30℃一晩培養しウェルの周りに形成される阻止円を観察した。活性を示した菌株を選抜し，培養液を用いた抗菌性物質の酵素・熱処理を行った。酵素処理は Proteinase K (和光純薬製) を 0, 0.22, 2.2, 220 unit/ml になるように中和滅菌後の培養液に加え，37℃ 5時間反応させた。また，熱処理は中和滅菌後の培養液を 90℃ 30分間，100℃ 30分間，110℃ 15分間，121℃ 15分間それぞれ熱処理を行った。各処理液をアガーウェル拡散法にて阻止円の消失の有無を確認した。

3. 結果

3-1 乳酸菌の分離

2度のサンプリングで総計164株の乳酸菌候補株を分離した。分離温度別にみると，35℃の分離温度でもっとも多い109株の分離株を取得した。また40℃においても20株が分離された。

サンプル別では，上層サンプルから22株，中層から68株，下層から75株の分離株を取得したが，いずれのサンプルにおいても桿菌が優勢に分離された。

表1 ブドウサイレージからの乳酸菌分離株数

分離温度	分離培地	上層		中層		下層	
		桿菌	球菌	桿菌	球菌	桿菌	球菌
30℃	MRS	0	0	3	0	10	0
	BCP	0	0	1	1	7	0
	GYP	0	0	7	0	6	0
35℃	MRS	8	0	14	3	11	5
	BCP	5	3	11	3	10	0
	GYP	5	1	12	4	13	1
40℃	MRS	0	0	2	0	3	0
	BCP	0	0	2	0	2	0
	GYP	0	0	4	0	7	0
合計	164	18	4	56	11	69	6

3-2 分離株の同定

ブドウサイレージから得られた分離株164株のうち，16S rDNA 配列解析によって同定を行った101株の結果を表2に示した。BLAST 検索によって既知の基準種との相同性が99%以上を示したものを同種と判断した。

Lactobacillus 属77株，*Leuconostoc* 属6株，*Pediococcus* 属1株，*Weissella* 属10株，未同定7株が認められ，ブドウサイレージ中の乳酸菌の多様性が高いことが明らかとなった。

表2 分離株の同定

Identification	No. of strains
<i>Lactobacillus alimentarius</i>	5
<i>Lactobacillus buchneri</i>	14
<i>Lactobacillus collinoides</i>	1
<i>Lactobacillus farciminis</i>	1
<i>Lactobacillus farraginis</i>	1
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	1
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	8
<i>Lactobacillus mali</i>	1
<i>Lactobacillus namurensis</i>	1
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	19
<i>Lactobacillus parafarraginis</i>	7
<i>Lactobacillus pentosus</i>	2
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	13
<i>Lactobacillus sicerae</i>	1
<i>Lactobacillus tuceti</i>	1
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	1
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	6
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1
<i>Weissella paramesenteroides</i>	10
New species	5
New species (<i>Clostridium</i>)	2

3-3 分離株の抗菌活性試験 (バクテリオシン生産性)

Lactobacillus sakei subsp. *sakei* JCM 1157^Tを被試験菌としてアガーウェル拡散法により抗菌活性を示した分離株は13株であった。比較対象としてナイシン生産菌の*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007, 悪臭低減効果を持つ市販の乳酸菌製材から分離したNS-9株とNS-X株, 分離株13株の計16株から得られた培養液の酵素処理試験および熱処理試験の結果を表3, 表4にそれぞれ示した。

抗菌活性を示した分離株13株はいずれもバンガーサイロの下層から分離されたものであった。NBRC 12007, NS-9, NS-X, 分離株6S35M314, 分離株6S35B315が生産する抗菌性物質は酵素処理によって抗菌活性は失活するが, 熱処理では安定であったことから, バクテリオシンである可能性が示唆された。

表3 選抜菌株の酵素処理試験

Strains	Inhibition zone (mm)			
	Control	0.025 units/ml	2.5 units/ml	250 units/ml
NBRC12007	22.1	16.5	14.6	-
NS-9	19.2	18.1	7.9	-
NS-X	17.5	12.1	-	-
6K35M311	6.2	-	-	-
6K35M314	13.3	10.9	-	-
6K35M324	-	-	-	-
6K35B312	10.3	-	-	-
6K35G312	-	-	-	-
6S35M311	-	-	-	-
6S35M312	12.1	8.1	-	-
6S35M314	17.9	14.1	-	-
6S35B311	8.1	-	-	-
6S35B315	19.1	17.8	8.8	-
6S35B411	-	-	-	-
9S35G312	-	-	-	-
9K30M354	-	-	-	-

表4 抗菌性物質の熱処理試験

Strains	Inhibition zone (mm)			
	90°C 30 min	100°C 30 min	110°C 15 min	121°C 15 min
NBRC12007	19.9	18.8	16.9	12.5
NS-9	19.8	17.9	11.1	7.9
NS-X	18.1	13.1	12.1	6.9
6K35M311	6.3	-	-	-
6K35M314	14.1	10.9	-	-
6K35M324	6.1	-	-	-
6K35B312	9.8	-	-	-
6K35G312	-	-	-	-

6S35M311	-	-	-	-
6S35M312	12.1	8.8	-	-
6S35M314	18.1	14.1	12.3	8.8-
6S35B311	-	-	-	-
6S35B315	19.4	16.9	14.1	11.1
6S35B411	-	-	-	-
9S35G312	6.4	-	-	-
9K30M354	-	-	-	-

4. 考察

バンガーサイロの深さはおよそ2m程度であり, 上層, 中層, 下層からそれぞれサンプリングを行い, 乳酸菌の分離を行った。上層から分離された乳酸菌は22株と最も少なく, これは上層部では中層や下層とは異なり, 酸素と接触することで, 好気性菌が優勢になるためと考えられる。一方, 中層や下層では嫌気状態となり通性嫌気性菌である乳酸菌が比較的多く分離できたと考えられる。

分離株の同定結果を見ると, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* が19株, *Lactobacillus buchneri* が14株主要属種として分離された。*L. paracasei* subsp. *tolerans* は耐熱性を示す菌群であり, 源記載では70°C 40秒のヒートショックを与えても生育すると報告されている。また *L. buchneri* はサイレージの好気的変敗を抑制するスターターとして広く利用されている。小林牧場ではスターターを添加しているのか不明であるが, 本実験で優先種として分離されたのは非常に興味深い。また *L. hirgardii* や *Leuconostoc mesenteroides* などはワイン中からの分離報告例が数多くあることからブドウ滓由来の乳酸菌である可能性が高い。

乳酸菌の生産する抗菌性物質バクテリオシンは低分子量のペプチド・タンパク質であるため, 熱に安定で100°C 15分程度の熱処理では分解されない。さらに一般的なタンパク質分解酵素により容易に分解され, その抗菌活性は失われる。抗菌スペクトルにおいては主に近縁の乳酸菌に活性を有し, その作用は静菌的なものもあるが, 殺菌的なものが多数である。これらの特徴をふまえ, バクテリオシンはクラスIからクラスIVまでに分類されている。今回の試験結果からだけではクラス分けはできないが, 乳酸菌分離株6S35M314および6S35B315が生産する抗菌物質は, ナイシン生産菌である*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007や悪臭低減が報告されているNS-9株, N-10株と同様に高い熱安定性を示したことから, この分離株2株も悪臭低減効果を持つことが期待できる。今後, 小規模脱臭試験を行い, その可能性を調査する予定である。

5. 結 言

ブドウ滓サイレージより164株の乳酸菌を分離した。16S rDNAの塩基配列解析による同定では主要属として *Lactobacillus* 属, *Weissella* 属, *Leuconostoc* 属などが認められた。

・ 164株中13株に抗菌活性が認められた。このうち分離株6S35M314, 6S35B315の2株が生産する抗菌物質はバクテリオシン様の物質であると考えられた。

参考文献

- 1) 日本乳酸菌学会編：乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス, P411-416, (2010)

成果発表状況

学会発表

- 1) 小西 啓太・乙黒 美彩・岸本 宗和, 古屋 元宏, 柳田 藤寿：ブドウ滓サイレージからの乳酸菌の分離とその性質, 日本農芸化学会2015年度大会, 岡山, (2015)

資 料

1 平成26年度山梨県総合理工学研究機構の活動

(1) 「山梨県総合理工学研究機構運営委員会」の開催

(委員名簿は別表1)

- ・平成26年6月16日 第1回運営委員会開催
平成25年度終了研究テーマの事後評価
平成26年度実施研究テーマの取組状況
- ・平成26年10月24日 第2回運営委員会開催
平成25年度開始研究テーマの中間評価
平成27年度新規研究テーマ(案)の事前評価

(2) 「山梨県総合理工学研究機構テーマ等調整会議」の開催

(構成員名簿は別表2)

- ・平成26年6月9日 第1回会議開催
平成26年度の研究体制等
平成26年度研究テーマの予算配分に係る考え方
平成25年度終了研究テーマの運営委員会における事後評価
平成26年度実施研究テーマ
平成27年度新規研究テーマ
- ・平成26年10月16日 第2回会議開催
平成25年度開始研究テーマの運営委員会における中間評価
平成27年度開始研究テーマ(案)の運営委員会における事前評価
- ・平成27年3月10日 第3回会議開催
平成28年度新規研究テーマについて

(3) 「山梨県総合理工学研究機構研究員研修会」の開催

- ・平成26年11月6日開催 山梨県酪農試験場 参加人数 33名
酪農試験場における研究の現状、総理研研究の試験概要、事務連絡、意見交換、酪農試験場の場内視察

(4) 「山梨県総合理工学研究機構共同研究テーマ企画会議」の開催

- ・平成27年2月9日開催
平成28年度の新規研究テーマの検討状況

(5) 試験研究重点化事業に係る評価の実施

- ・平成26年7月17日～18日(2日間)
事後評価(平成25年度終了課題):5機関11課題
- ・平成26年10月10日～20日(5日間)
事前評価(平成27年度新規課題):8機関9課題の提案中9課題を採択
中間評価(平成27年度継続課題):6機関19課題の提案中19課題を採択

(6) 研究報告書の出版

- ・平成26年7月31日 山梨県総合理工学研究機構研究報告書第9号を出版

(7) 研究成果の発表

- ・平成26年9月5日 やまなし産学官連携研究交流事業において研究発表
- ・平成26年5月30日 研究成果発表会（アイメッセ山梨） 参加人数99名

(8) 特許出願

- ・平成27年2月25日 「光照射による鶏の産卵調整方法」 (出願番号：特願2015-034890)

別表1 山梨県総合理工学研究機構運営委員会委員名簿

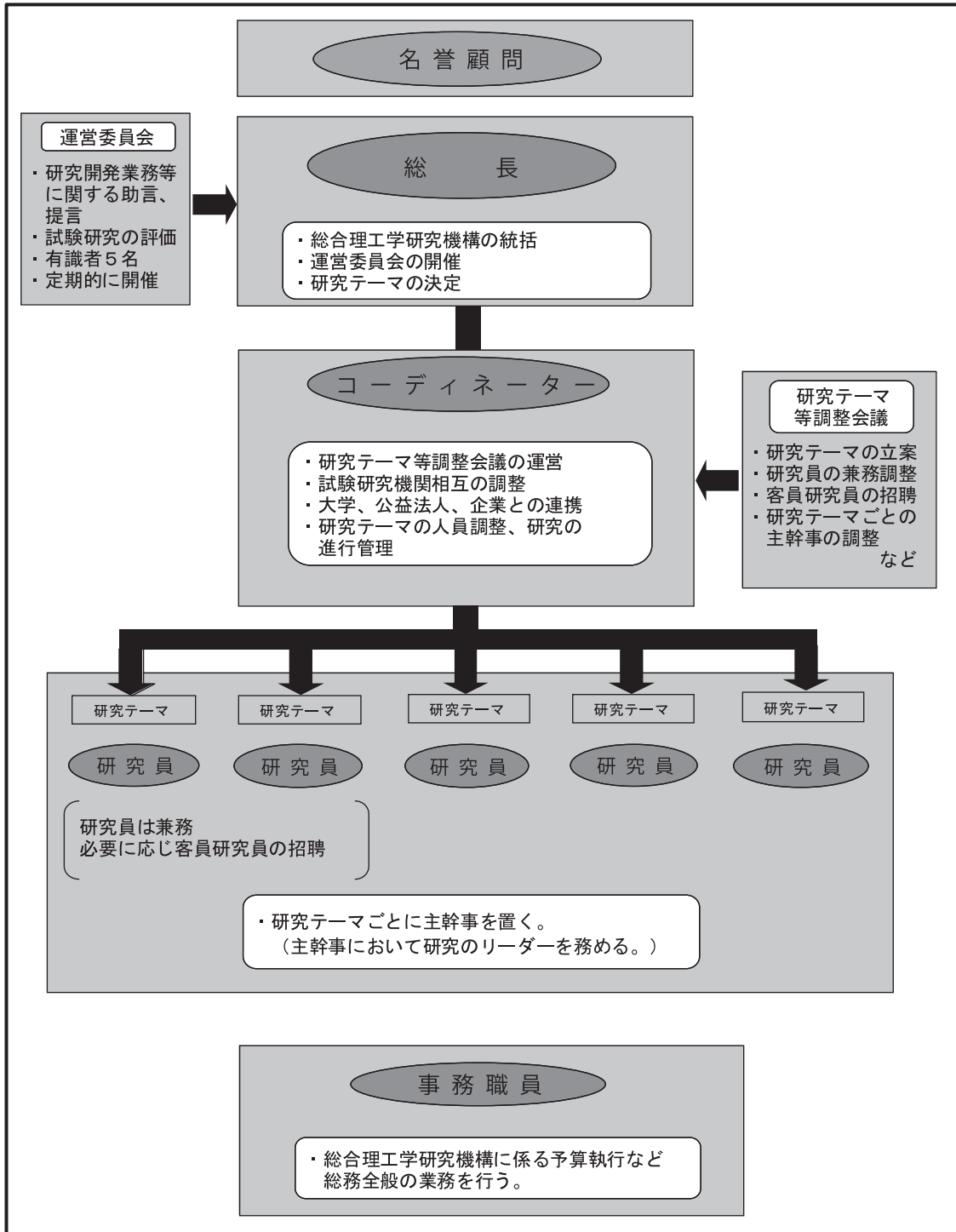
氏名	役職名
◎伊藤 洋	山梨県立大学長
○風間 善樹	産業活性化研究所長、山梨県機械電子工業会名誉会長
有田 順	山梨大学大学院医学工学総合研究部教授
早川 正幸	山梨大学生命環境科学部長
陽 捷行	(公財) 農業・環境健康研究所 農業大学校長

(五十音順、役職名は平成26年6月現在、◎:委員長、○:副委員長)

別表2 山梨県総合理工学研究機構研究テーマ等調整会議構成員名簿

氏名	職名
深澤 武彦	山梨県衛生環境研究所長
古屋 正人	山梨県富士山科学研究所副所長
岡部 恒彦	山梨県森林総合研究所長
石原 光弘	山梨県工業技術センター所長
小俣 芳久	山梨県富士工業技術センター所長
竹丘 守	山梨県水産技術センター所長
市川 和規	山梨県総合農業技術センター所長
猪股 雅人	山梨県果樹試験場長
福沢 昭文	山梨県畜産試験場長
輿水 佳哉	山梨県酪農試験場長
渡辺 祐一	山梨県総合理工学研究機構事務局長
雨宮 圭一	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター
北原 正彦	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター
佐野 照雄	山梨県総合理工学研究機構コーディネーター

2 平成26年度山梨県総合理工学研究機構組織図



3 平成26年度職員名簿

名 誉 顧 問	大 村 智	研 究 員 (兼)	小 泉 美 樹
総 長	小 林 正 彦	研 究 員 (兼)	長 谷 川 裕 弥
事 務 局 長	渡 辺 祐 一	研 究 員 (兼)	山 本 真 也
次 長 (兼)	平 山 茂	研 究 員 (兼)	池 永 直 浩
		研 究 員 (兼)	佐 藤 博 紀
(総務スタッフ)		研 究 員 (兼)	佐 藤 貴 裕
副 主 幹	加 藤 美 恵	技 師 (兼)	前 田 陽 子
		技 師 (兼)	石 原 希 朋
(コーディネーター)		技 師 (兼)	佐 藤 憲 亮
特別研究員	雨 宮 圭 一		
特別研究員	北 原 正 彦		
研究管理幹	佐 野 照 雄		
(研究スタッフ)			
特別研究員 (兼)	柴 田 尚		
研究管理幹 (兼)	吉 澤 一 家		
研究管理幹 (兼)	長 谷 川 達 也		
主幹研究員 (兼)	藤 木 俊 也		
主幹研究員 (兼)	松 下 浩 一		
主幹研究員 (兼)	内 山 高		
主幹研究員 (兼)	長 坂 克 彦		
主幹研究員 (兼)	渡 辺 誠		
主任研究員 (兼)	青 柳 敏 裕		
主任研究員 (兼)	岡 崎 巧		
主任研究員 (兼)	小 林 浩		
主任研究員 (兼)	戸 沢 一 宏		
主任研究員 (兼)	加 藤 成 二		
主任研究員 (兼)	保 倉 勝 己		
主任研究員 (兼)	河 野 裕		
主任研究員 (兼)	古 屋 元 宏		
主任研究員 (兼)	五 十 嵐 哲 也		
主任研究員 (兼)	木 村 英 生		
主任研究員 (兼)	串 田 賢 一		
主任研究員 (兼)	西 村 通 喜		
主任研究員 (兼)	土 橋 宏 司		
研 究 員 (兼)	三 井 由 香 里		
研 究 員 (兼)	木 島 一 広		
研 究 員 (兼)	石 田 正 文		
研 究 員 (兼)	鈴 木 文 晃		
研 究 員 (兼)	三 神 武 文		
研 究 員 (兼)	阿 部 治		
研 究 員 (兼)	長 沼 孝 多		
研 究 員 (兼)	秋 本 梨 恵		
研 究 員 (兼)	尾 形 正 岐		
研 究 員 (兼)	小 田 切 幸 次		
研 究 員 (兼)	樋 口 かよ		

4 研究課題及び担当コーディネーター一覧

No.	研究テーマ	年 度										
		17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
17-1	地域農産素材等の機能性解明と高付加価値製品の開発	功刀能文	眞浦正徳	眞浦正徳	眞浦正徳							
17-2	未利用農林産物系バイオマスの利用技術の開発	功刀能文	眞浦正徳	眞浦正徳								
17-3	廃棄プラスチックの熱分解とリサイクル技術の研究開発	鮎沢信家	永井正則									
17-4	無電極放電プラズマ光による次世代水殺菌処理システムの研究開発	鮎沢信家	乙黒親男									
17-5	栽培条件の異なるブドウ「甲州」を用いたワインの個性化醸造技術の確立に関する研究	渡辺和裕	乙黒親男	乙黒親男								
18-1	農林水産物の鳥獣被害に対する防除対策の研究		永井正則	永井正則								
19-1	ブドウ搾り滓を活用した家畜排せつ物の堆肥化および環境負荷低減化技術の開発			乙黒親男	上條幹人	市川和規						
19-2	人工光利用による施設栽培ブドウの高品質化技術の開発			眞浦正徳	眞浦正徳	市川和規						
19-3	甲府盆地飲用地下水を中心とする水質特性の時系列解析および新規地下水調査			永井正則	永井正則	輿水達司						
20-1	自然公園内における湖沼の水質の向上に関する研究				永井正則	輿水達司	輿水達司					
20-2	自然資源のもたらす保健休養上の効用に関する研究				永井正則	輿水達司						
20-3	野生動物による被害の防除に関する研究				永井正則	輿水達司						
20-4	酸化亜鉛透明導電膜の成膜プロセス開発と有効活用に関する研究					上條幹人	上條幹人					
21-1	化合物半導体多層太陽電池の開発					上條幹人	中山信一					
21-2	酒造米および有色素米の栽培と利用に関する研究					市川和規	市川和規	市川和規				
21-3	醗酵食品残渣の有効利用に関する研究					市川和規	市川和規	市川和規				
21-4	高効率太陽熱吸収技術に関する研究開発					上條幹人	中山信一	中山信一				
22-1	マイクロ金型による微細転写加工技術に関する研究						中山信一	中山信一	中山信一			
22-2	南アルプスにおけるニホンジカによる高山植物への影響と保護対策および個体数管理に関する研究						輿水達司	瀬子義幸	瀬子義幸			
23-1	生物利用型水質浄化システムの構築と応用に関する研究							瀬子義幸	瀬子義幸	北原正彦		
23-2	装身具向け貴金属合金の開発に関する研究							中山信一	中山信一			
23-3	果実の収穫適期の把握と専用カラーチャートの開発							市川和規	市川和規	雨宮圭一		
23-4	農畜産物の流通形態に対応した鮮度保持技術に関する研究							市川和規	市川和規	雨宮圭一		
24-1	LED単波長光照射が動植物の生体に及ぼす影響と利用技術に関する研究								市川和規	雨宮圭一	雨宮圭一	
24-2	タケ資源の有効利用に関する研究								中山信一	樋川芳仁	佐野照雄	
24-3	クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究								市川和規	雨宮圭一	雨宮圭一	
25-1	富士北麓水資源の保全と活用のための水文科学的研究									北原正彦	北原正彦	北原正彦
25-2	山梨県固有のデザインソースの編集とアーカイブ構築									樋川芳仁	佐野照雄	佐野照雄
25-3	アニオン交換型燃料電池用電解質膜の研究開発									樋川芳仁	佐野照雄	
26-1	新しいバイオマーカーを利用した山梨県の有用植物等資源の探索と活用										北原正彦	北原正彦
26-2	環境負荷を低減するための豚の飼料調製に関する研究										雨宮圭一	雨宮圭一

No.	研究テーマ	年 度											
		17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
27-1	甲州印伝への山梨県産鹿革の活用とプロダクトの試作開発												佐野照雄
27-2	雪崩発生条件の解明と観測機器の開発												北原正彦
27-3	クニマスの保全並びに活用に関する研究												雨宮圭一
27-4	硬質小麦「ゆめかおり」の栽培技術の確立と利用に関する研究												雨宮圭一

総合理工学研究機構研究報告書
第10号

Y-CROST Research Report No.10 (2015)

2015年7月発行

編集・発行
山梨県総合理工学研究機構

〒400-0055 甲府市大津町2094
電話：055-243-6046
Fax：055-243-6047
e-mail：s-rikouken@pref.yamanashi.lg.jp

印刷 株式会社 島田プロセス
表紙デザイン：山梨県工業技術センター デザイン技術部