ISSN 0919-0023

サンケイ科学振興財団研究報告

Bulletin of the Sankei Science Scholarship Foundation

No. 21

２０１１

公益財団法人　サンケイ科学振興財団

The Sankei Science Scholarship Foundation

ま　え　が　き

当財団法人では、鹿児島県内の産業振興に寄与するための科学的研究で、とくに化学またはバイオに関する研究に対して、毎年助成を行っております。

この「サンケイ科学振興財団研究報告」第２１号は、当財団法人が平成２２年度に助成を行った研究の成果を収録したものであります。

平成２３年８月

公益財団法人　サンケイ科学振興財団

代 表 理 事　福　谷　　明

目　　次

１．鹿児島湾におけるシャトネラ赤潮の発生メカニズムの解明
・・・・・・・・・・・・・・・・１
鹿児島大学大学院理工学研究科海洋土木工学専攻
安達　貴浩・小橋　乃子

２．世界最小マイクロミニピッグを用いた食餌中コール酸の脂質代謝における作用機序の解明
・・・・・・・・・・・・・・・１１
鹿児島大学農学部獣医学科　病態・予防獣医学講座　病理学分野
川口　博明

３．バガス（さとうきびの搾りかす）のセルロース抽出とグルコース化
・・・・・・・・・・・・・・・２１
鹿児島大学大学院理工学研究科　化学生命・化学工学専攻
下茂　徹朗・武次　祐樹

鹿児島湾におけるシャトネラ赤潮の発生メカニズムの解明

安達　貴浩・小橋　乃子

鹿児島大学大学院理工学研究科海洋土木工学専攻
〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-40
TEL：099-285-8466

要旨

鹿児島湾では，ブリやハマチ等の養殖が活発に行われており，これら養殖業を含む水産業は鹿児島県の重要産業の一つとなっているが，1977 年以降，有害赤潮シャトネラマリーナの発生による深刻な漁業被害が度々生じている．このような問題を解決し，鹿児島湾で持続可能な水産業を実現するためには，まず，鹿児島湾でのシャトネラ赤潮の発生メカニズムを明らかにする必要がある．

本研究では，シャトネラ赤潮の発生を評価・予測可能な生態系モデルの検証データセットを充実させることを意図し，2008 年，2009 年に実施してきたシャトネラ赤潮に関連する現地観測を 2010 年にも実施した．そして，2008～2010 年までの 3 年間にわたる塩分・水温環境とプランクトン組成の特性を明らかにした．

1. 緒言

鹿児島湾ではブリやハマチの養殖をはじめとする水産業が活発に営まれているが，1977 年の有害赤潮シャトネラマリーナ（以下，*C. marina*）の発生以来しばしば有害赤潮が発生し，深刻な漁業被害が生じている．しかしながら，現地観測結果が限られていることもあって，これまで鹿児島湾における赤潮の発生メカニズムには不明な点が多く残されていた．このような状況下にあって，安達ら（2009）[1]は，2008 年の *C. marina* 赤潮の発生期間における水質とプランクトン相について現地観測を行い，その結果に基づいて，鹿児島湾における *C. marina* 赤潮の消長の要因について考察を行なっている．赤潮発生時の *C. marina* の細胞密度の増減を栄養塩濃度によって説明できることから，2008 年の *C. marina* 赤潮は，主に水温の好適期間において降水による河川流量の増加に伴って栄養塩の供給が増加し，栄養塩制限下にあった *C. marina* が増殖して発生した可能性が示された．

一方，安達ら（2010）[2]は，*C. marina* 赤潮が形成されなかった 2009 年にも 2008 年と同様の現地観測を実施し，2008 年と 2009 年の 2 つのデータセットを用いて，年毎の赤潮発生の有無が生じる要因について考察を行なっている．この結果，年毎の *C. marina* 赤潮の発生の違いを説明するためには，他のプランクトンとの競合関係が重要であり，それを説明するためには，栄養塩濃度だけでなく栄養塩濃度の履歴も重要である可能性が示されている．

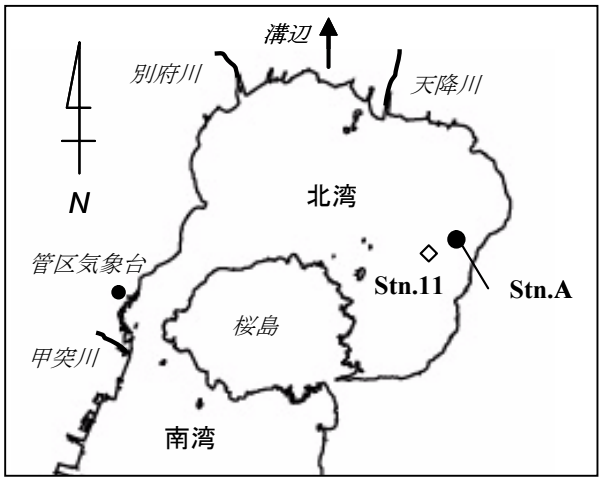
栄養塩の履歴を明らかにできる高頻度の観測を実現することは現実的に難しいことから，年毎の *C. marina* 赤潮発生の有無を評価・予測するためには，数値シミュレーションの活用が有効だと考えられる．既に安達ら（2010）[2)]によって陸域から鹿児島湾への栄養塩の供給量を推定する手法が確立されていること，さらに流動シミュレーションモデルは既に確立されていることから（安達ら（2009）[3)]），検証データを充実化することによって， *C. marina* 赤潮の発生を精度良く評価・予測できるモデルを構築できると期待される．特に，植物プランクトンの種組成，さらには高精度に連続観測が可能であり *C. marina* 赤潮形成に重要な役割を果たす塩分・水温の連続観測を継続的に実施することは重要である．

以上のような背景を踏まえて，本研究では，2010 年にも鹿児島湾において，*C. marina* 赤潮に関連する現地調査を継続的に実施した．そして，2008～2010 年までの 3 年間にわたる塩分・水温環境とプランクトン組成の特性を明らかにした．

2. 現地観測の概要

鹿児島湾湾奥部における赤潮の発生メカニズムを明らかにするために，赤潮多発地点に観測地点を設け（**図-1**，Stn.A），2007 年より定点観測を実施している．塩分・水温計，蛍光度・濁度計ならびに光量子計を係留し（アレック社製・COMPACT-CT, CTW, CLW, CW），水面下 1m の水温，塩分，蛍光度，濁度の連続観測を行っている．また，ほぼ月に 1 回の頻度で，水深 1m 地点での海水を採水し，アンモニア態窒素，亜硝酸態窒素，硝酸態窒素，リン酸態リン，珪酸塩，クロロフィル *a* を分析し，さらに検鏡により植物プランクトン相を調べている．

なお，月 1 回程度の割合で鹿児島県水産技術開発センターによって水質調査がなされていることから，Stn.A とほぼ同一地点と見なせる Stn.11 における観測値を必要に応じて活用した（Stn.11 と Stn.A は約 30m 離れており，Stn.11 では表層，Stn.A では水面下 1m での水質が調べられている）．



3. 観測結果の概要

2008 年～2010 年にかけて，鹿児島湾で *C. marina* 赤潮が発生したのは，2008 年のみである（赤潮最盛期は 6/23～6/27）．**図-2** に，*C. marina* にとって好適な水温条件が出現する 6, 7 月における鹿児島港の潮位（気象庁 [4]），降水量（溝辺測候所，気象庁 [5]），風（鹿児島管区気象台，気象庁 [5]），水温，塩分，塩分・水温による比増殖速度の経時変化を年毎に示す．なお，塩分・水温による比増殖速度は，室内培養実験から得られた以下の山口ら(1991)の式 [6]を用いて算出した．

$$\mu'_{ST} = \frac{\mu}{\mu_m} = 7.43755 - 1.21833T + 0.05924T^2 - 0.00092T^3$$
$$- 0.00157S^2 + 0.00669TS + 0.00001TS^2 - 0.00015T^2S$$

ここで，μは *C. marina* の増殖速度，μ_mは最大増殖速度，μ'_{ST}は塩分・水温のみが制限因子となる場合の比増殖速度，Tは水温，Sは塩分である．

さらに，**図-3** に，6, 7 月におけるプランクトンの種類毎の細胞密度の経時変化を示す．

4 観測結果の考察

2008 年～2010 年の観測結果の特徴は以下のようにまとめることができる．

1) 2008 年においてのみ，*C. marina* が発生した．
2) 2008, 2010 年に比べて，2009 年の 6, 7 月の降水量は少ない．この結果，2009 年には陸域からの栄養塩の供給が少なく，植物プランクトンが増殖しにくい栄養塩環境にあったことが推察される．
3) *C. marina* 赤潮は，23℃以上の水温で発生することが知られている．23℃以上の水温が連続的に出現するようになる日は，2008 年：6/18，2009 年：6/20，2010 年：6/25 となっており，各年の最大の比増殖速度はこの日以降に出現している．
4) 2010 年は，2008 年と同様に 6,7 月の降水量が多いが，表層塩分が 2008 年よりも大きく低下し, この結果, 最大の比増殖速度は, 2008 年よりも小さな値を示している．
5) *C. marina* 赤潮が発生した 2008 年においては，2009 年，2010 年に比べて総じて植物プランクトンの細胞数が多い．観測が実施された 3 年間を通じて赤潮が発生した 2008 年 6 月に最も植物プランクトンの細胞数が多く， *C. marina* だけでなく 2008 年の 6,7 月は最も植物プランクトンが増殖しやすい環境であったことが推察される．

5. 結言

本研究により，2008～2010 年までの 3 年間にわたる塩分・水温環境とプランクトン組成の特性が明らかとなった．得られた結果を入力条件や検証用データとして用いて，今後，生態系モデルを確立する予定である．

6. 引用文献

1) 安達貴浩，小橋乃子，小針統：鹿児島湾における有害赤潮発生時の水質とプランクトン組成の現地観測，水工学論文集，第 53 巻，pp.1507-1512, 2009.
2) 安達貴浩、小橋乃子：鹿児島湾におけるシャトネラ赤潮と河川からの栄養塩流入の特性、水工学論文集、第 54 巻、pp.1609-1614, 2010.
3) 安達貴浩、大山俊昭：鹿児島湾・西桜島水道における残差流構造と海水交換、海岸工学論文集、第 56 巻、pp.421-425, 2009.
4) 気象庁 HP：www.data.kishou.go.jp/db/tide/dbindex.html
5) 気象庁 HP：www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php
6) 山口峰生ら:有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖速度に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響, 日本水産学会誌, Vol.57(7), pp.1277-1284, 1991.

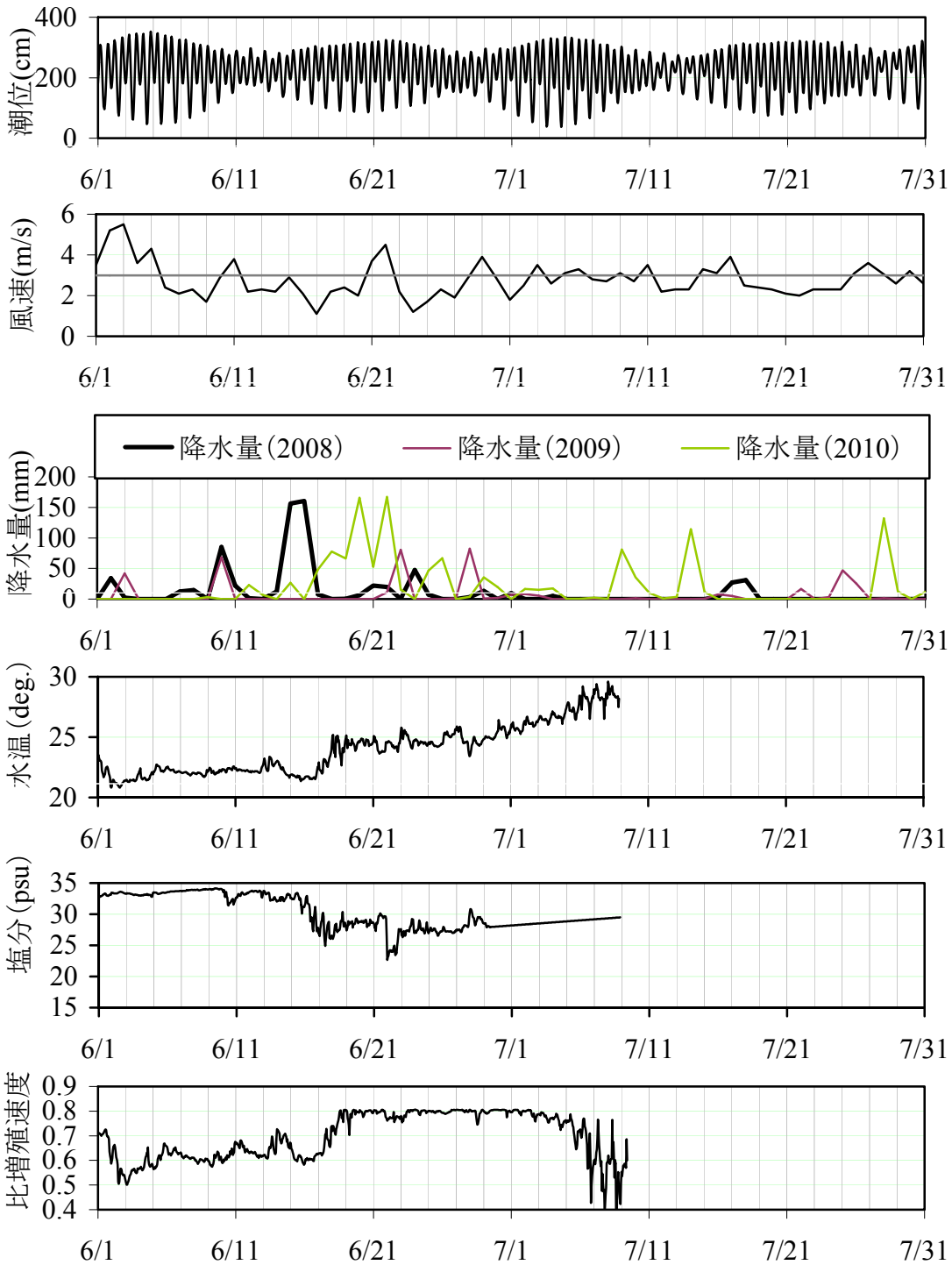


図-2(a)　2008 年 6, 7 月における潮位，風速，降水量，水温，塩分，塩分・水温による比増殖速度の経時変化

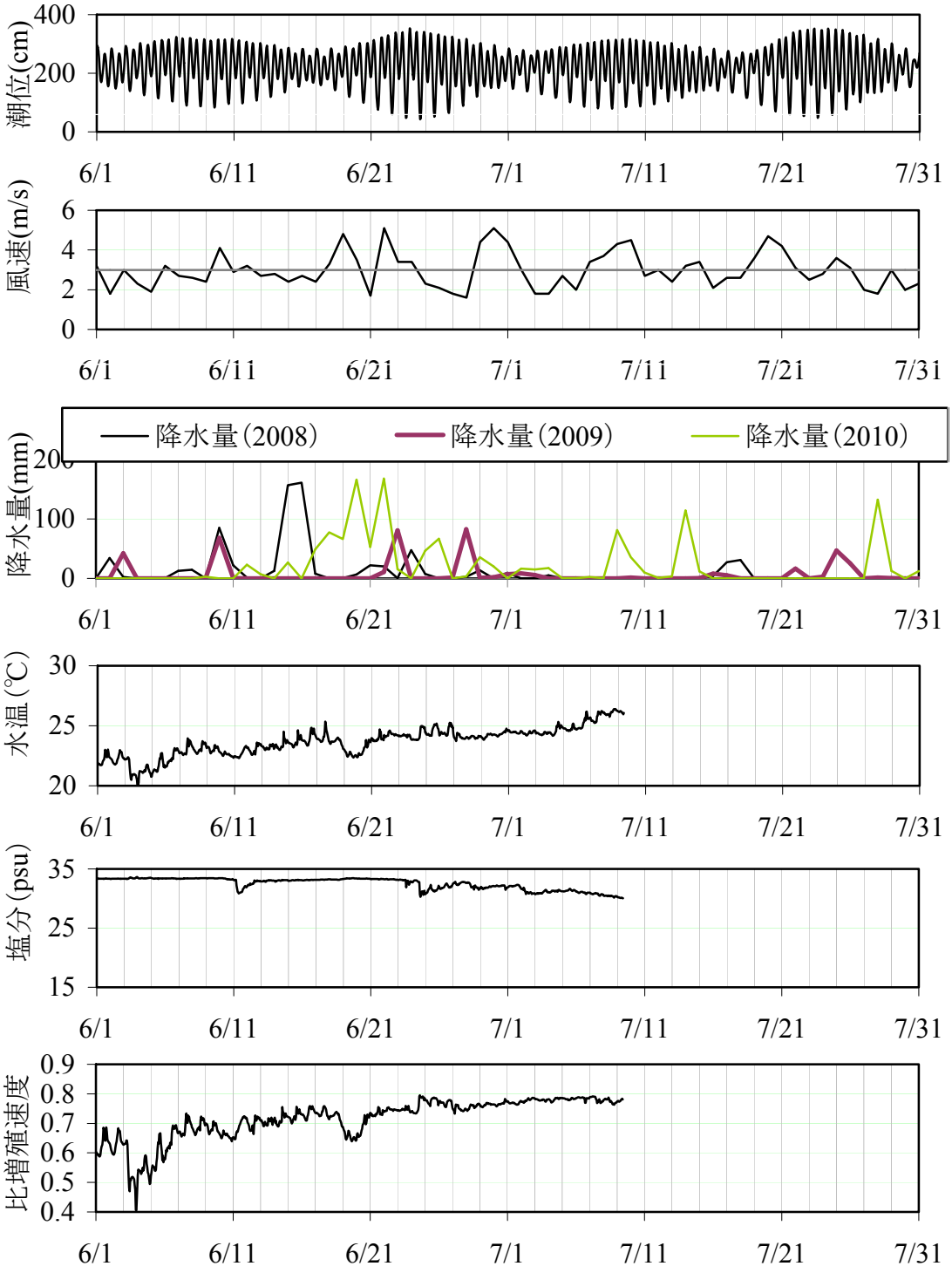


図-2(b)　2009 年 6, 7 月における潮位，風速，降水量，水温，塩分，塩分・水温による比増殖速度の経時変化

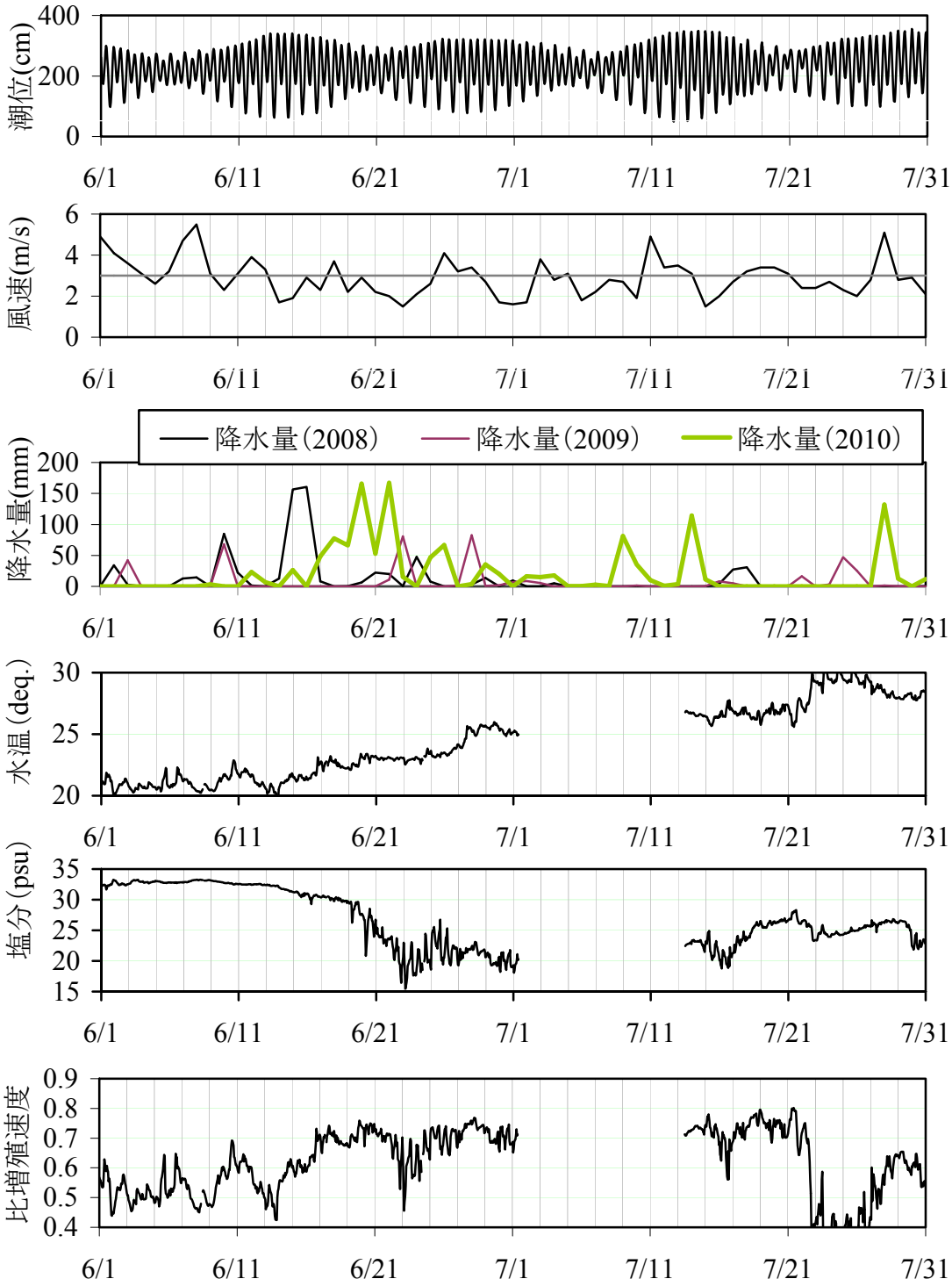
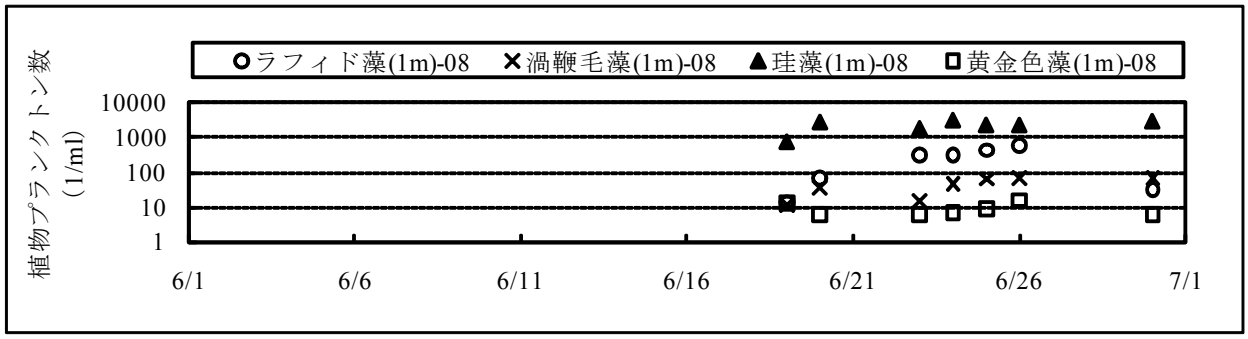
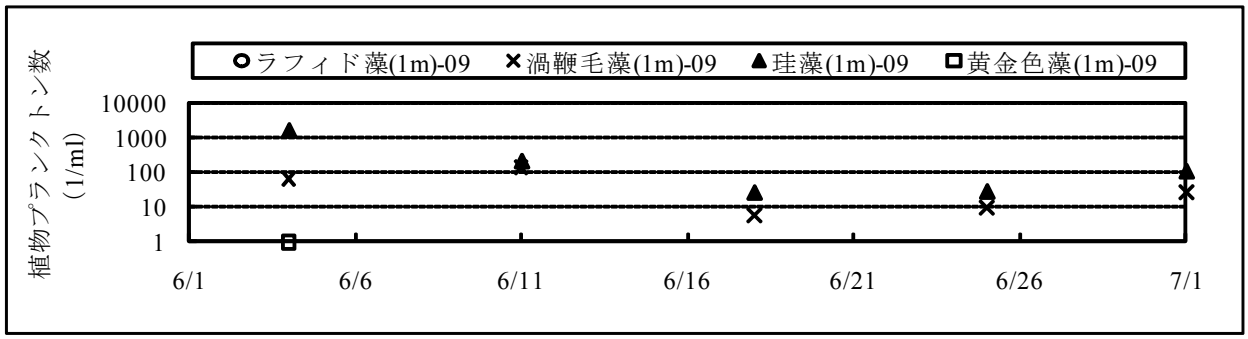


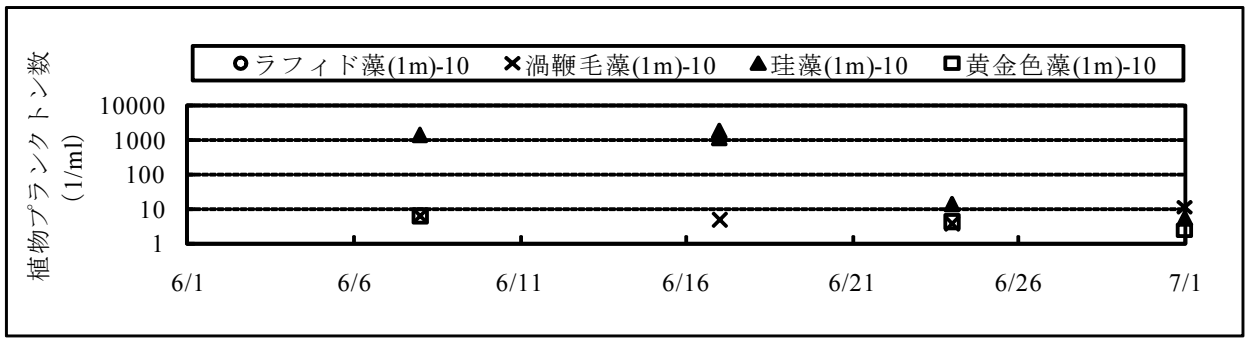
図-2(c)　2010 年 6, 7 月における潮位，風速，降水量，水温，塩分，塩分・水温による比増殖速度の経時変化



(a) 2008 年



(b) 2009 年



(c) 2010 年

図-3　2008 年～2010 年 6, 7 月における植物プランクトン相の経時変化
（水面下 1 m 地点）

HARMFUL BLOOM OF CHATTONELLA IN KAGOSHIMA BAY

Takahiro Adachi・Naoko Kohashi

Ocean Civil Engineering Course, Graduate School of Science and Engineering,
Kagoshima University
1-21-24 Korimoto, Kagoshima City, 890-0065, Japan

Since 1977, a red tide of Raphidophyte "*Chattonella marina*" has often occurred in Kagoshima Bay. In order to solve this problem, the mechanism to form the red tide should be made clear. Thus, we carried out the field observation in 2010 to collect the data for verification of numerical models. Then we made clear the characteristics of temporal change in salinity, temperature and phytoplankton composition at the observational position.

世界最小マイクロミニピッグを用いた食餌中コール酸の脂質代謝における作用機序の解明

川口　博明

国立大学法人鹿児島大学農学部獣医学科　病態・予防獣医学講座　病理学分野
〒890-0065　鹿児島市郡元 1-21-24
TEL: 099-285-8720

要　旨

最近、我々の研究グループは世界最小マイクロミニピッグ（Microminipig^{TM}: MMP）を用いて、高脂肪・高コレステロール＋コール酸飼料の給餌により動脈硬化症を誘発することに成功した。本課題では、このモデルを用いてコール酸を添加しない高脂肪・高コレステロールのみの飼料で動脈硬化症を誘発できるかを検証する。

6 頭の 3 カ月齢の雄 MMP を用い、3 群（n=2）に分け、I 群：高脂肪（12%）・高コレステロール（5%）飼料、II 群：高脂肪・高コレステロール＋コール酸（0.7%）飼料、III 群：高脂肪・低コレステロール（2%未満）＋コール酸飼料を 3 ヵ月間給餌した。実験期間中毎週、体重および採血による血清脂質代謝マーカーをモニターした。実験終了後剖検し、病理組織学的に検索した。

3 群いずれも同程度の高コレステロール血症を発生した。実験終了時剖検では、冠状動脈や脳底部動脈をはじめ全身に動脈硬化病変がみられ、その病変の程度は 3 群いずれも同程度であり、さらにヒトの動脈硬化病変に類似していた。

MMP では、高コレステロール血症および動脈硬化発生にコール酸添加が不要で、低用量コレステロール含有特殊配合飼料でも高コレステロール血症を誘発し、全身に動脈硬化病変を発生することが明らかとなった。

1. 諸　言

現在、日本人の死因は循環器系疾患（脳・心筋梗塞）が悪性腫瘍に次いで第 2 位であり、これらの循環器系疾患の克服のため、その主因である動脈硬化の病態を解明し、治療法等を開発するための有用な動物モデルの開発は不可欠で社会的急務である [1-3]。

従来の動脈硬化モデルは、遺伝子改変マウス [4-6]や遺伝的に LDL 受容体が欠損しているため動脈硬化をきたしやすい WHHL ウサギを用いたもの [7-9]があったが、これらの動物は低 LDL コレステロール動物であり、ヒトとの類似点が乏しい。また、野生型マウスは動脈硬化抵抗性動物であり、遺伝子改変マウスにみられる動脈硬化病変も fibrous cap の形成がみられないなど、ヒト動脈硬化とは大きく異なっている [10, 11]。これらの背景より、ヒトの生活習慣に起因した動脈硬化に類似した動物モデルが求められており、最近、ブタが注目されている。豚は約 1 万年前に中国でイノシシを家畜化したことに始

まり、長い年月をかけてヒトの生活習慣に順応したと考えられている[12]。結果、Table 1 に示すように、ブタは食性や行動期がヒトと同じ、循環器系の解剖・生理がヒトに近いなど様々な点でヒトに類似しており、脂質代謝においてもヒト同様に高 LDL コレステロール動物である。れまでに、Göttingen（デンマーク）、Clawn（日本）、Yucatan、Sinclair や Hanford（米国）ミニブタをはじめとする人為的に小型化された実験用ミニブタの開発が行われてきた。近年、EU 諸国では約 6 万頭のブタが研究に用いられるようになり[13]、EUROGUIDE (2007)にもブタが明記してある。しかしながら、Göttingen などの一般的なミニブタは、体重が 30～40 kg にも及ぶため、特殊な飼育施設の必要性や取り扱いに難があり、さらに、高価な薬剤を大量に用いる必要もあるため、わが国では、最近のイヌの年間利用数約 1～2 万頭に対して 2007 年に研究に使用されたブタは 1300 頭にとどまる結果となっており、ミニブタの更なる小型化が望まれている。

Table 1 ヒトと実験動物の遺伝因子および環境因子の類似点

動物種	遺伝因子		環境因子		
	脂質代謝 (リポ蛋白分画)	冠状動脈構造	食事	摂食	行動期
ヒト	高 LDL 動物	3 本 (側副血行路できにくい)	雑食	食事時間固定	昼
ブタ(MMP)	高 LDL 動物	3 本 (側副血行路できにくい)	雑食	食事時間固定	昼
イヌ	低 LDL 動物	2 本 (側副血行路できやすい)	偏食	食事時間固定	昼
サル	高 LDL 動物	ヒトに類似	偏食	食事時間固定	昼／夜
ウサギ	低 LDL 動物	3 本	偏食	随時	夜
マウス	低 LDL 動物	4 本	雑食	随時	夜

最近、世界最小の超小型ミニブタであるマイクロミニピッグ（Microminipig^{TM}: MMP）が作出された[14]。我々の研究グループは MMP を用いて、高脂肪・高コレステロール＋コール酸飼料を 3 ヵ月間給餌することにより冠状動脈や大脳動脈輪を含む全身の動脈に動脈硬化を誘発することに成功し、この動脈硬化病変がヒトのそれに類似していることを明らかにした[15, 16]。本課題では、このモデルを用いてコール酸を添加しない高脂肪・高コレステロールのみの特殊配合飼料で動脈硬化症を誘発できるかを検討した。さらに、低用量コレステロール含有特殊配合飼料についても同様に検討した。

2. 実 験

2.1. 動物と実験計画

6 頭の 3 カ月齢の雄 MMP を用い、3 群（n=2）に分け、I 群：高脂肪（12%）・高コレステロール（5%）飼料、II 群：高脂肪・高コレステロール＋コール酸（0.7%）飼料、III 群：高脂肪・低コレステロール（2%未満）＋コール酸飼料を 3 ヵ月間給餌した(Table 2)。実験期間中毎週、体重および採血による血清脂質代謝マーカーをモニターした。実験終了後剖検し、病理組織学的に検索した。

Table 2. Components of the special diets

Group	Special diet	Components (% w/w)		
		Fat	Cholesterol	SC
I	HF/HC	12	5	None
II	HF/HC+SC	12	5	0.7
III	HF/LC+SC	12	< 2	0.7

HF/HC: high fat and high Cho diet, HF/LC: high fat and low Cho diet, SC: sodium cholate.

2.2. 血清脂質マーカー

Total cholesterol (T-Cho), free cholesterol (free-Cho), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG), cholesterol ester (CE)(CE = T-Cho – free-Cho)を検査した。

2.2. 病理組織学的検索

剖検時、16 の動脈 (Table 2)、心臓、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、中性緩衝ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋し、病理組織学的検索（HE 染色）に供した。動脈硬化病変については Stary Stage (I-VIII) にて分類した [16-19]。

3. 結果と考察

3.1. 体重

体重は I 群、II 群、III 群、III 群で 0 から 12 週の体重増減がそれぞれ 3.9, 3.2, and 3.7 kg であった(Fig.1)。

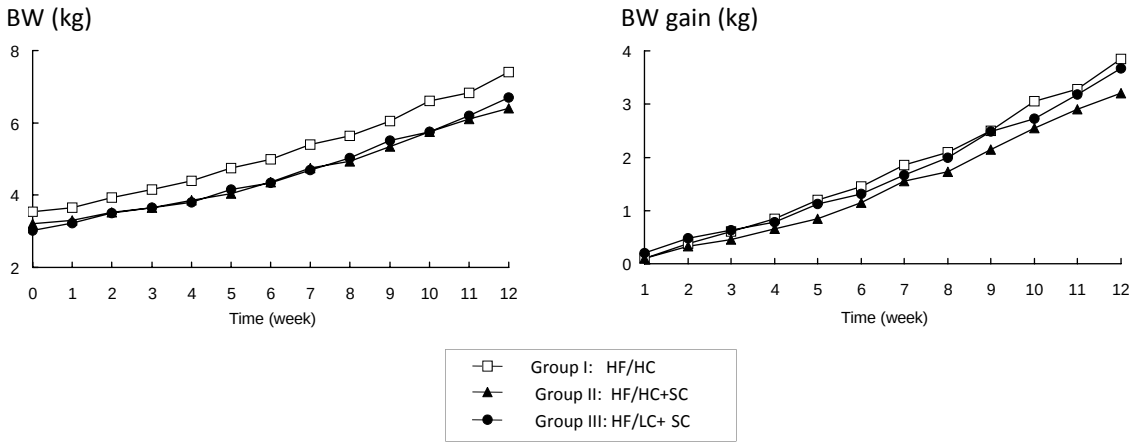


Fig.1. BW and BW gain.

3.2. 血清脂質マーカー

3 群いずれも特殊配合飼料給餌後 1 週目から血清は白濁し、Fig.2 に示すような高コレステロール血症を発生したが、3 群間で大きな差はみられなかった。

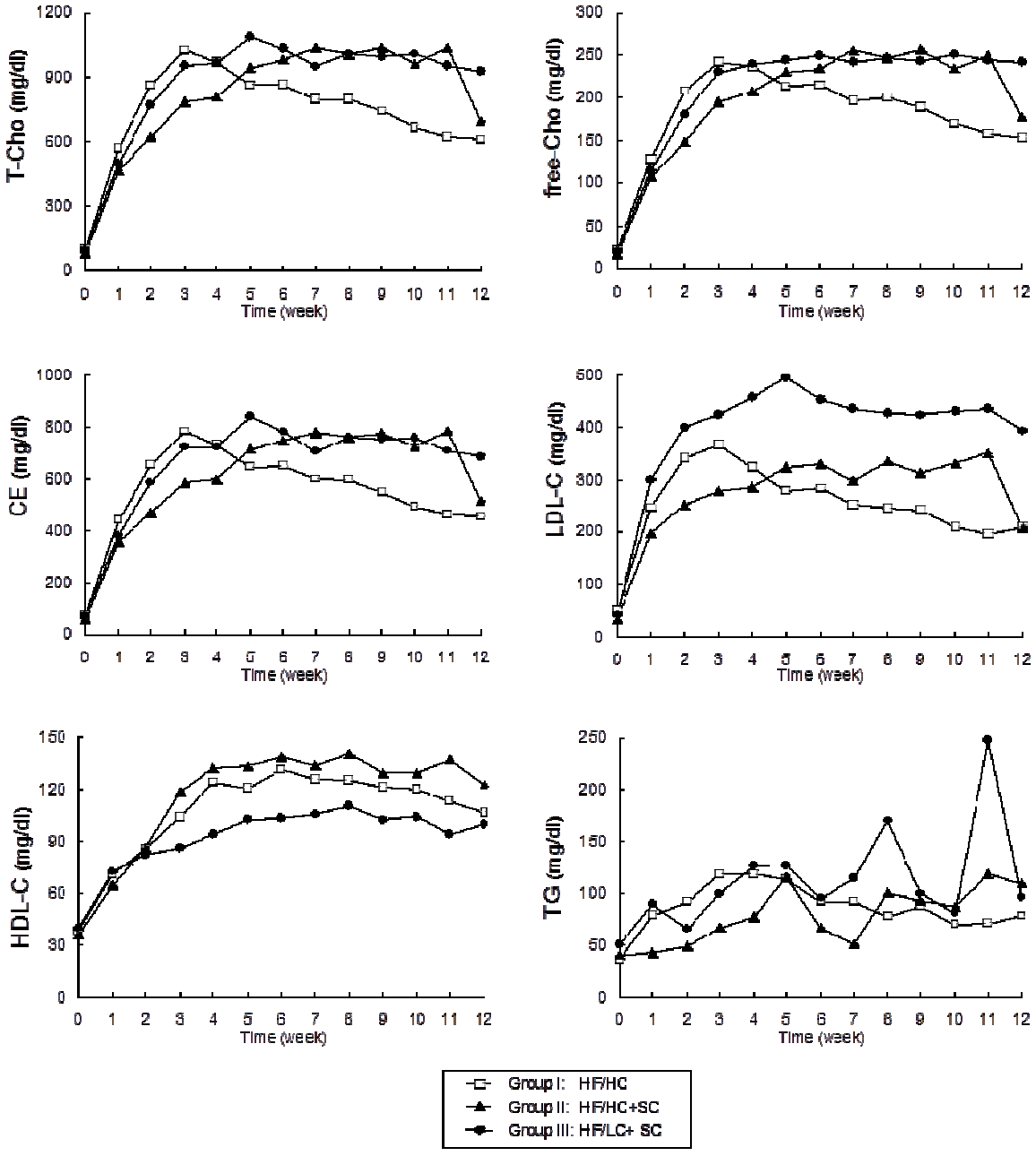


Fig.2. Biochemical parameters of lipid metabolism.

3.3. 病理組織学的検索

実験終了時剖検では、冠状動脈や脳底部動脈をはじめ全身に動脈硬化病変がみられ、その病変の程度は 3 群いずれも同程度であり、ヒトの動脈硬化病変に類似していた[16](Table 3, Fig.3)。

Table 3. Atherosclerosis score according to Stary classification

Group (special diet):	I (HF/HC)		II (HF/HC+SC)		III (HF/LC+SC)	
Animal No.:	1	2	3	4	5	6
LAD artery	II	V[b]	II	V	II	V[a]
LCX artery	—	V[a]	—	II	—	II
RCA	II	V[a, b]	I	VI[a, c]	II	V[a]
Pulmonary artery	II	—	—	I	—	—
Aortic arch	II	II	II	II	II	II
Common carotid artery	—	II	—	II	—	—
Thoracic aorta	II	II	II	II	II	II
Abdominal aorta	V[b]	V[b]	II	V[a]	II	V
External iliac arteries	V	—	II[b]	I	II	—
Internal iliac arteries	I	—	I	II	—	I
Renal artery	—	—	—	—	II	—
Pancreatic artery	—	—	—	II[a]	—	—
Rostral cerebral artery	II	—	—	I	—	—
Internal carotid artery	—	—	—	—	I	—
Caudal communicating artery	I	I	—	I	VI[a]	—
Basilar artery	II[a]	—	—	—	—	—

LAD: Left anterior descending, LCX: left circumflex, RCA: right coronary artery.

[a] Stenosis (50-95%), [b] calcification, [c] hemorrhage.

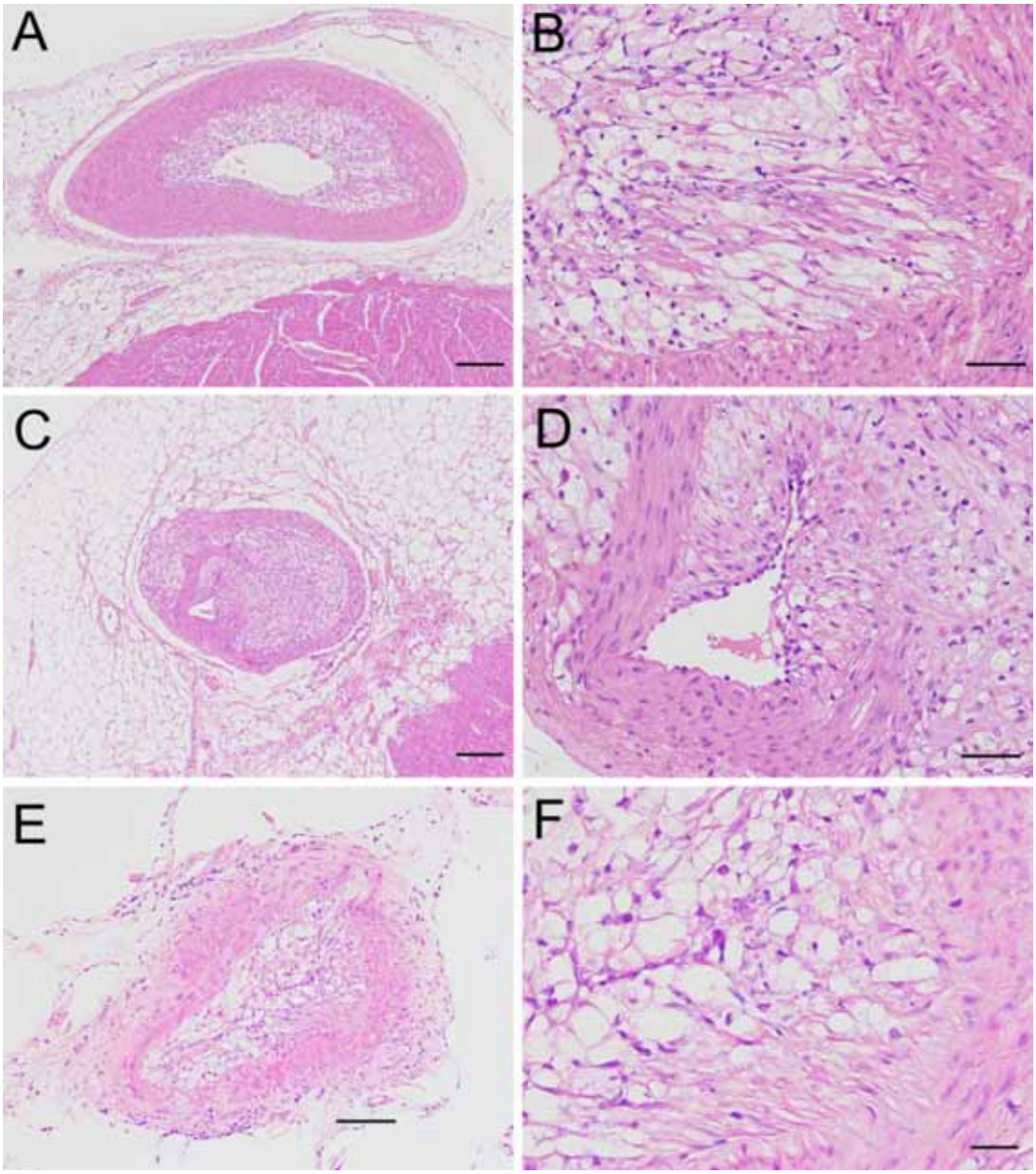


Fig.3. Microscopic appearance of atherosclerotic lesions. Stenosis (approximately 70%) is shown in the coronary artery (A) and considerable foamy cell infiltration is shown in the thickening site (B). Severe stenosis (approximately 90%) is shown in the coronary artery (C) and considerable foamy cell infiltration is shown in the thickening site (D). Severe stenosis (approximately 95%) is shown in the caudal communicating artery (E) and considerable foamy cell infiltration is shown in the thickening site (F). A, B: Group II (HF/HC+SC); C-F: Group III (HF/LC+SC). Bar = 200 μm (A, C), 50 μm (B, D), 100 μm (E), 20 μm (F). HE stain: A-F.

4. 結　論

MMP では、高コレステロール血症および動脈硬化発生にコール酸添加が不要で、低用量コレステロール含有特殊配合飼料でも高コレステロール血症を誘発し、全身に動脈硬化病変を発生することが明らかとなった。

5. 謝　辞

本研究を遂行するにあたり、研究費助成をしていただいた財団法人鹿児島科学研究所に厚く御礼を申し上げます。

6. 引用文献

1) Washio M, Sasazuki S, Kodama H, Yoshimasu PK, Liu Y, Tanaka K, Tokunaga S, Kono PS, Arai H, Koyanagi S, Hiyamuta K, Doi Y, Kawano MT, Nakagaki MO, Takada K, Nii MT, Shirai K, Ideishi MM, Arakawa MK, Mohri MM, Takeshita A: Role of hypertension, dyslipidemia and diabetes mellitus in the development of coronary atherosclerosis in Japan. Jpn Circ J, 2001; 65:731-737.
2) Turk JR, Henderson KK, Vanvickle GD, Watkins J, Laughlin MH: Arterial endothelial function in a porcine model of early-stage artherosclerotic disease. Int J Exp Path, 2005; 86:335-345.
3) Xi S, Yin W, Wang Z, Kusunoki M, Lian X, Koike T, Fan J, Zhang Q: A minipig model of high-fat/high-sucrose diet-induced diabetes and atherosclerosis. Int J Exp Path, 2004; 85:223-231.
4) Hamada N, Miyata M, Eto H, Ikeda Y, Shirasawa T, Akasaki Y, Miyauchi T, Furusho Y, Nagaki A, Aronow BJ, Tei C: Loss of clusterin limits atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice via reduced expression of Egr-1 and TNF-α. J Atheroscler Thromb. 2011; 18:209-216.
5) Reddick RL, Zhang SH, Maeda N: Atherosclerosis in mice lacking apo E. Evaluation of lesional development and progression. Arterioscler Thromb, 1994; 14:141-147.
6) van Vlijmen BJ, van den Maagdenberg AM, Gijbels MJ, van der Boom H, HogenEsch H, Frants RR, Hofker MH, Havekes LM: Diet-induced hyperlipoproteinemia and atherosclerosis in apolipoprotein E3-Leiden transgenic mice. J Clin Invest, 1994; 93:1403-1410.
7) Suzuki H, Kobayashi H, Sato F, Yonemitsu Y, Nakashima Y, Sueishi K: Plaque-stabilizing effect of pitavastatin in Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits. J Atheroscler Thromb, 2003; 10:109-116
8) Buja LM, Kita T, Goldstein JL, Watanabe Y, Brown MS: Cellular pathology of progressive atherosclerosis in the WHHL rabbit. An animal model of familial hypercholesterolemia. Arteriosclerosis, 1983; 3:87-101
9) Shiomi M, Ito T, Tsukada T, Yata T, Ueda M: Cell compositions of coronary and aortic atherosclerotic lesions in WHHL rabbits differ. An immunohistochemical study. Arterioscler Thromb, 1994; 14:931-937.
10) Zadelaar S, Kleemann R, Verschuren L, de Vries-Van der Weij J, van der Hoorn J, Princen HM, Kooistra T: Mouse models for atherosclerosis and pharmaceutical modifiers. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007; 27:1706-1721.
11) Schwartz SM, Galis ZS, Rosenfeld ME, Falk E: Plaque rupture in humans and mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007; 27:705-713.

12) Bollen PJA, Hansen AK, and Rasmussen HJ: Important biological features. In: The Laboratory Swine 2nd Ed, ed by Bollen PJA, Hansen AK, Rasmussen HJ and Suckow MA, pp1-14, CRC Press, New York, USA, 2010.
13) Svendsen O. The minipig in toxicology: Exp Toxicol Pathol. 2006; 57:335-339.
14) Kaneko N, Itoh K, Sugiyama A, Izumi Y: Microminipig, a non-rodent experimental animal optimized for life science research: preface. J Pharmacol Sci. 2011; 115:112-114.
15) Kawaguchi H, Miyoshi N, Miura N, Fujiki M, Horiuchi M, Izumi Y, Miyajima H, Nagata R, Misumi K, Takeuchi T, Tanimoto A, Yoshida H: Microminipig, a non-rodent experimental animal optimized for life science research:novel atherosclerosis model induced by high fat and cholesterol diet. J Pharmacol Sci. 2011; 115:115-121.
16) Miyoshi N, Horiuchi M, Inokuchi Y, Miyamoto Y, Miura N, Tokunaga S, Fujiki M, Izumi Y, Miyajima H, Nagata R, Misumi K, Takeuchi T, Tanimoto A, Yasuda N, Yoshida H, Kawaguchi H: Novel microminipig model of atherosclerosis by high fat and high cholesterol diet, established in Japan. In Vivo. 2010 Sep-Oct;24(5):671-680.
17) Stary HC: Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000; 20:1177-1178.
18) Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW: A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation, 1995; 92:1355-1374.
19) Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW: A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation, 1994; 89:2462-2478.

Role of Sodium Cholate in Diet in Microminipig Atherosclerosis Model

Hiroaki KAWAGUCHI, DVM, Ph.D, Diplomate-JCVP

Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Kagoshima University ・
1-21-24, Korimoto, Kagoshima 890-0065, JAPAN.

Abstract

Our research group has recently established a Microminipig (MMP) atherosclerosis model by feeding a high fat (12%) and high cholesterol (Cho, 5%) diet containing sodium cholate (SC, 0.7%) (HF/HC+SC). We investigated whether HF/HC alone and/or a high fat and low Cho (< 2%) diet containing SC (HF/LC+SC) can induce atherosclerosis in the MMP.

Six male MMPs aged three months were used and were divided into three groups of two. The MMPs in Groups I, II, and III were fed HF/HC alone, HF/HC+SC, and HF/LC+SC, respectively, for three months.

Feeding HF/HC alone, HF/HC+SC, or HF/LC+SC induced a similar degree of hypercholesterolemia resulting in the onset of atherosclerosis comparable to that in humans.

It is clear that the addition of SC to the diet is not necessary for the MMP atherosclerosis model. Exclusion of SC will also yield a cost benefit for such experiments. These factors suggest that the MMP will contribute to research into human atherosclerosis.

バガス（さとうきびの搾りかす）のセルロース抽出とグルコース化

下茂 徹朗・武次 祐樹

鹿児島大学大学院理工学研究科 化学生命・化学工学専攻
〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-35
TEL：099-285-8331

要旨

本研究は、バイオマス資源として注目を集めているバガスの有効利用を目的としてバガスのグルコース化を検討した。まず、バガスの主成分のうちリグニン(約 25%)とヘミセルロース(約 25%)をアルカリ処理によって溶解、除去し、セルロース(約 50%)を抽出した。抽出したセルロースを酢酸セルロースに誘導し、加水分解反応を検討した結果、穏和な条件で選択的にグルコースを得ることができた。

1. 緒言

化石燃料は資源に限りがあり、再生可能なエネルギーへの転換が急がれている。再生可能なエネルギーの一つとしてバイオマスの利用がある。現在ではとうもろこしやさとうきびなどの食用のバイオマスを用いたバイオエタノールの製造が実用化に至っている。しかし、2000 年代からの食物価格高騰による影響を受け、食糧用と拮抗しないセルロース系バイオマスの有効利用が求められている[1)]。

セルロース系バイオマスの一つとしてバガスが注目を集めている。バガスとはフランス語で「さとうきびのしぼり粕」を意味するものであり、その年間排出量は 1 億トンにもあがっている。しかし大部分が燃料として焼却されており、さらなる高付加価値化が望まれている。もし、この余剰バガスを付加価値のあるグルコースに効率的に誘導することができれば、資源面、環境面で様々なメリットが期待できる。

セルロースからグルコースを生成する方法には酸加水分解、酵素加水分解、超臨界水による加水分解等が挙げられる。しかし、セルロースの加水分解は非常に困難であり、いずれの方法も、収率や副生成物、コストなどに問題があった。セルロースが加水分解されにくい要因はセルロースが強固な分子間水素結合を有することにより結晶性の繊維を形成するためである[2,3]。そのため、セルロース系バイオマスをバイオエタノール等の有用な物質に転換するためにはグルコースを効率よく生成することが大きな課題となっている[4,5)]。

そこで、本研究ではバガスの有効利用を目的としてバガスからセルロースを抽出し、グルコースの効率的な生成を検討した。

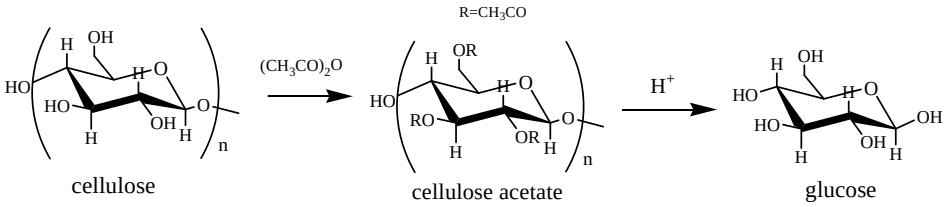
2. 実験

2.1 バガスのアルカリ処理

リグニン、ヘミセルロースを除去しセルロースを抽出するためにアルカリ処理を検討した。バガス 15.0g に 3%NaOH を 230ml 加え、還流条件で 1 時間撹拌を行った。反応終了後、濾過を行い沈殿物が pH7 となるまで蒸留水（800ml）で洗浄した。その後 100℃で 48 時間乾燥した。生成物を FT-IR によって構造解析を行った。

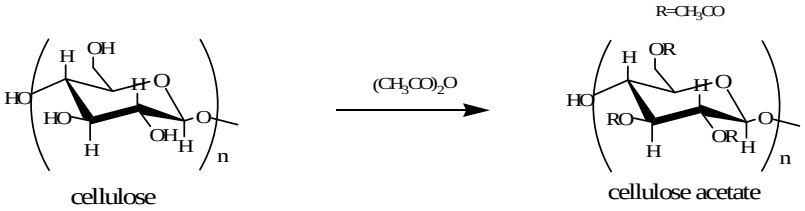
2.2 バガスから抽出したセルロースの糖化

バガスから抽出したセルロースを効率的に糖化するために、酢酸セルロースを経た加水分解を検討した。反応式を下式に示す。次に、各反応ごとに述べる。



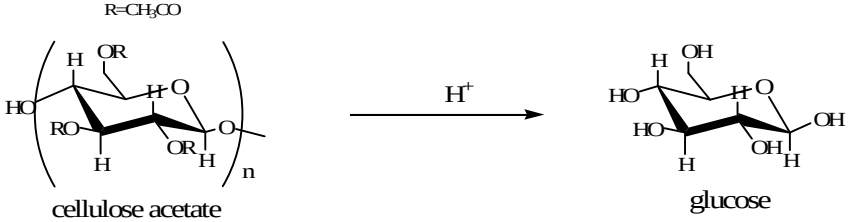
2.2.1 酢酸セルロースの調製

2.1 で得たセルロース 5.0g にエステル化誘導試薬として無水酢酸 25.0g、溶媒として酢酸 90.0g、触媒として硫酸 1.0g を加えバス温度 80℃で 1.5h 撹拌を行った。反応終了後、この溶液に大量の蒸留水を投入し再沈殿を行い、吸引ろ過により回収した生成物を十分に洗浄し、減圧乾燥することで灰白色固体 5.4g を得た。得られた生成物の構造解析は ^{1}H-NMR により行った。



2.2.2 酢酸セルロースの酸加水分解

2.2.1 で調製した酢酸セルロース(0.5g)に溶媒として蒸留水(50g)、触媒として TFA(3g)を加え、還流条件下で 48 時間撹拌を行った。その後濾過を行い、ろ液を減圧濃縮し、黒色の粘ちょう物を得た。生成物を ^{1}H-NMR によって構造解析を行った。



3. 結果と考察

3.1 バガスのアルカリ処理

3%アルカリ処理の結果、灰色固体 7.8g を得た、収率は 52%であった。バガスのセルロース含有率が約 40～50%といわれることからリグニン、ヘミセルロースを除去できたことが示唆された。FT-IR によりセルロースの生成を確認した。

3.2 バガスから抽出したセルロースの糖化

3.2.1 酢酸セルロース調製

セルロースを穏和な条件で糖化するために、酢酸セルロースの調製を検討した。まず、セルロース 5.0g を無水酢酸 25.0g、酢酸 90.0g、硫酸 1.0g を用いてアセチル化することによって置換度約 3 の酢酸セルロース 5.4g を得た(収率 86%)。^{1}H-NMR による結果を Fig.1 に示す。^{1}H-NMR より、アセチル基由来の 3 つのメチルプロトンと AGU の 7 つのメチンプロトンが見られ、酢酸セルロースの生成が確認できた。

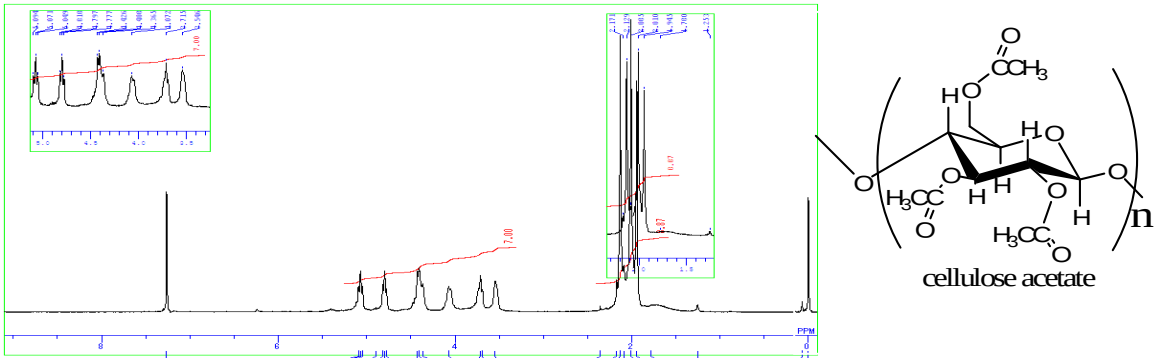


Fig.1 ^{1}H-NMR spectrum of cellulose acetate obtained from bagasse($CDCl_3$)

3.3.2 酢酸セルロースの酸加水分解

調製した酢酸セルロース 0.5g をトリフルオロ酢酸(5.0g)を用いて酸加水分解を行い、グルコース 0.38g を得た(生成率 49%)。生成率はピラジン定量により算出した。　^{1}H-NMR による結果を Fig.2 に示す。

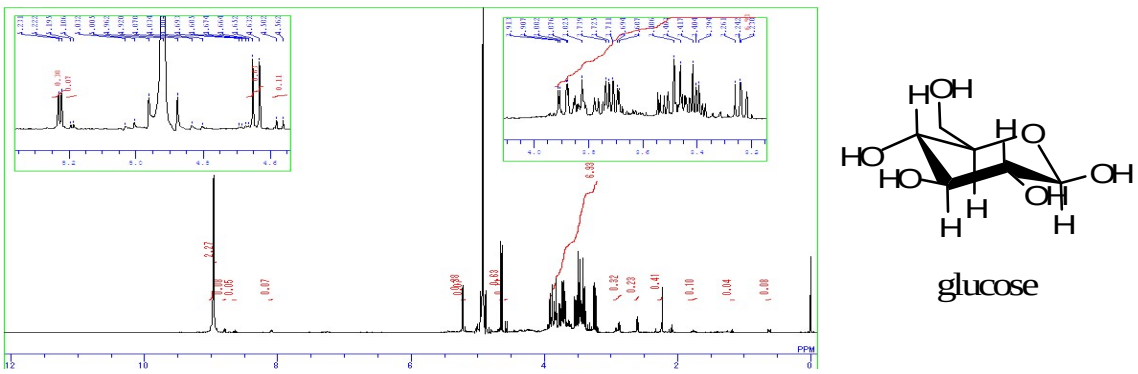


Fig.2 ^{1}H-NMR spectrum of glucose obtained from bagasse(D_2O)　(δ 9.0contain pyridine)

^{1}H-NMR より、1 位のα水素とβ水素由来のプロトンおよびグルコース骨格の 6H 分のプロトンが見られ、グルコースの生成が確認された。

バガスから抽出したセルロースを酢酸セルロースに誘導して加水分解反応を行うことにより、穏和な条件でグルコースを得ることができた。また、セルロースの二次分解物である、フルフラール類やレブリン酸はほとんど生成しなかった。

穏和な条件で加水分解が進行した要因としては、アセチル化によりセルロースの強固な分子間水素結合が切断され、内部のグリコシド結合にプロトンがアクセス可能になったためであると考えられる。またセルロースの二次分解物がほとんど生成せず、選択的にグルコースを得ることができた要因としてはアセチル基が反応終盤まで保護基として働いたためであると考えられる。

今後はバガスから抽出したセルロースを水溶性セルロースに誘導し、均一条件下で反応を行うことにより、さらなる収率の向上が期待できる。

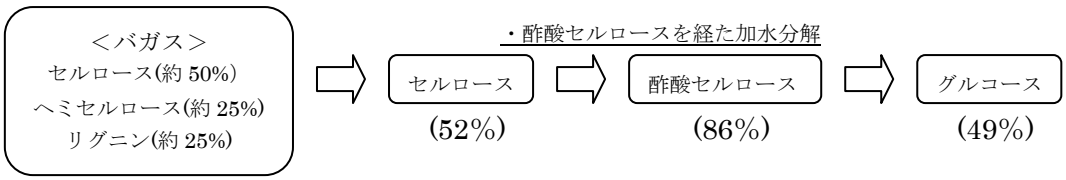
4. 結論

本研究は、廃棄処分されているバガスの有効利用を目的として、バガスのセルロース抽出、そしてグルコース化について研究を行ったものである。本研究で得られた主な結果は以下の通りである。

(1)3%NaOH 加熱アルカリ処理によって、リグニン、ヘミセルロースを除去し、セルロースを抽出することができた。

(2)バガスから抽出したセルロースから商業的に価値の高い酢酸セルロースを容易に調製することができた。

(3)バガスから抽出したセルロースを酢酸セルロースに誘導したことで、穏和な条件で良好な生成率でグルコースを得ることができた。以下に詳細な量関係を示す。



5. 謝辞

本研究課題を遂行するにあたり、研究助成をして頂いた財団法人鹿児島科学研究所に厚くお礼を申し上げます。また、研究に関して示唆を頂いた染川賢一名誉教授に深謝申し上げます。

参考文献

(1)バイオマスハンドブック（日本エネルギー学会）
(2) 磯貝明,セルロースの科学（朝倉書店）(2007)
(3) 越島哲夫,機能性セルロース（シーエムシー出版）
(4) H.Chen,S.Jin, Enzyme and Microbial Technology **39**,1430-1432(2006)
(5) K.K.Chang, B.Y.Cai, J.A.Zhang, Biochemical Engineering, 38, 105-109(2008)

Extraction of cellulose and production of glucose from bagasse

Tetsuro Shimo, Yuki Taketsugu

Department of Chemistry, Biotechnology and Chemical Engineering,
Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University
Korimoto 1-21-40, Kagoshima 890-0065, Japan

This paper reports about the extraction of cellulose included in bagasse powder and the generation of glucose from cellulose by way of cellulose acetate. Bagasse powder was treated with 3%NaOH aqueous solution at 100℃ for 1h to give about 50% weight decrease. This result enough shows the removal of lignin and hemicelluloses in bagasse powder.It was found that alkali pre-treatment is effective to obtain cellulose from bagasse powder. From the above result, the treatments of bagasse to obtain glucose were carried out as follows. Bagasse powder was treated with 3%NaOH aqueous solution followed by acetylated by using acetic anhydride to give cellulose acetate in 86% yield. Acid hydrolysis of cellulose acetate using trifluoroacetic acid at 100℃ afforded glucose in 49% yield.

平成２３年８月３１日　発行

鹿児島市南栄二丁目９番地
（サンケイ化学株式会社内）
電話　099-268-7588
公益財団法人　サンケイ科学振興財団