

その結果、OsChialcΔCBD、OsChib3a に高度脱アセチル化されたキトサン(MAC)を加えると熱変性中点温度(T_m)はそれぞれの酵素のみの時よりも上昇した。以上の結果は両酵素とMAC の間に何らかの相互作用があることを示唆していた。そこで、より定量的に各酵素とMAC の相互作用を測定するために、MAC からリゾチームを結合させたカラムによって完全脱アセチル化キトサンを分離し、得られた FMAC(Fractionated monoacetylated chitosan) のGlcNAc のメチル基のプロトンシグナルが酵素が加えられることによりどのように変化するかを観察した所、OsChib3a を加えると FMAC の加水分解が起こることがわかり、OsChialcΔCBD を加えると全く変化が見られなかった。そこで、さらに詳細なキトサンとOsChialcΔCBD の相互作用を分析するために、FMAC の縦緩和時間(T_1)を $^1\text{H-NMR}$ によって測定した。その結果 FMAC 中の GlcN の H1 と H2 の T_1 が増加しており、GlcN の分子運動抑制されていることが分かった。これらの結果から、OsChialcΔCBD は FMAC と非特異的な結合をしていると推測された。

Chapter IV では、OsChialcΔCBD、OsChib3a をアセチル化度の異なる部分アセチル化キトサンと反応させその反応生成物を $^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ によって分析した。その結果、OsChib3a は GlcNAc-GlcNAc もしくは GlcNAc-GlcN のグリコシド結合を同頻度で加水分解しており、OsChialcΔCBD は GlcNAc-GlcNAc もしくは GlcN-GlcNAc の結合を加水分解するが、GlcN-GlcNAc の分解速度は極めて低く、GlcNAc-GlcNAc 結合の分解に対する選択性が高いことがわかった。これらの結果より、OsChib3a はさまざまなアセチル化度のキトサンに働くのに対して、OsChialcΔCBD はアセチル化度が高いキトサンに特に有効に働くことが分かった。これらの特異性は、イネ由来キチナーゼの植物体内での役割に深く関係していると考えられた。

以上のように、本研究においておこなわれた、イネ由来キチナーゼのキチンオリゴ糖に対する加水分解様式および各サブサイト固有の親和力の分布の比較はアミノ酸配列に基づくファミリー分けをより細かく分類することを可能にするであろう。またファミリー18および19キチナーゼの異なるアセチル化度の高分子キトサンに対する基質特異性の解明はイネキチナーゼが本来生体内で何を標的として、どのように作用しているかといった生理的機能や、これらのキチナーゼのイネの中での存在意義を裏付けるために、重要な情報と成りうるであろう。よって、本論文は博士論文として十分に価値のあるものであることを認める。

氏 名	よし だ しん じ 吉 田 慎 治
学位の種類	博 士 (農学)
学位記番号	農 第 8 6 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	環境保全型防蟻剤の開発

論文審査委員 (主 査)	教 授	榎	章 郎
(副主査)	教 授	駒 井	功 一 郎
(副主査)	教 授	田 中	裕 美

論文内容の要旨

現在、世界の森林資源は、自然あるいはプランテーションによる森林資源の更新速度より速い速度で減少している。住宅、橋等の木造建築物の機能的耐久性を高め、その耐用年数をより長くすることにより、森林資源（森林それ自体や森林に由来する家具、建造物、パルプ等）の蓄積量を地球上に増やすことは、大気中の二酸化炭素の増加による地球温暖化、水資源の枯渇、土砂の海への流失、異常気象等の地球環境悪化を改善するための極めて有効な手段である。

シロアリはセルロース性材料や木材を最もひどく加害する生物集団の一つである。シロアリは生きている樹木や種々の穀物を加害する。中でも、シロアリによって引き起こされる最も深刻な被害は、屋内外の建築物において建材として用いられている木材の食害である。それゆえ、シロアリの食害から木材を守る木材保存剤の利用は、不必要な木質資源の劣化・浪費を抑制し、木材製品の耐用年数を延ばすための大変魅力的な手段となっている。

地球温暖化、化学物質による環境汚染、資源の枯渇等の地球環境の悪化が加速度的に進行している。そしてその悪化の規模・速度は地球に本来備わっている修復能力を上まわろうとしている。このような状況にあつては、全ての製品はそのライフサイクル（原料採取—加工・製造—流通・使用・消費—リサイクル・廃棄の過程）において、地球環境にかかる負荷量が可能なかぎり小さいものでなければならない。木材保存のための防蟻剤も例外ではない。植物が生産した天然物を直接利用して製剤化した製品は、そのライフサイクルにおいて地球環境にかかる負荷量が化石資源由来の化合物のよれよりはるかに小さい。石油に由来する化合物の代替物として、天然物を利用することは、石油資源の使用量を減少させ、地球温暖化を抑制するのに役立つ。

以上の観点から、安全性が高く、地球環境に優しい木材保存剤を開発するために、種々の天然物のシロアリに対する防蟻効力を検討した。

エステルを構成する脂肪酸の炭素数が6から18とアルコールの炭素数が4までで構成されるエステル類についてイエシロアリに対する防蟻効力・殺蟻力を実験で測定した。さらに炭素数が6から18までの脂肪酸と炭素数が7から18のアルコールについても防蟻効力・殺蟻力を検討した。土壤質量に対して1%となるように各化合物を処理し、水を加えて、含水率を10%とした後、イエシロアリの職蟻を土壤上に放し、経時的にその健康状態を観察した。その結果、脂肪酸類では炭素数が10（デカン酸）以下の脂肪酸は3時間以内に投入したシロアリ全匹を死亡させた。アルコール類では炭素数が14（テトラデカノール）以下のアルコールが3時間以内に投入したシロアリ全匹を死亡

させることがわかった。脂肪酸エステルについては構成している脂肪酸の炭素数が10以下でかつアルコールの炭素数が4以下の化合物で高い殺蟻効力が認められた。分子量が小さい程、殺蟻効力は大きいことがわかった。しかし分子量が小さくなるに従い、蒸散速度が速くなり、効力を失うのも速くなることがわかった。以上の結果と、安価であること、安全性が高いこと、長期間防蟻効力の持続が期待できることから、デカン酸を用いた木材保存用防蟻剤の開発に着手した。そしてデカン酸を主成分とした環境や人体に対する安全性の高いファーストガードシリーズを創製した。デカン酸は工業的にはヤシ油・パーム油由来の脂肪酸として流通しており、食品添加物として収載されている。ファーストガードシリーズの中で最も評価の高い製剤は土壌処理用防蟻剤ファーストガードMPである。本製剤は防蟻有効成分としてデカン酸50.0%、木質系担体39.5%、ヒバ中性油1.0%、ウコン1.0%、食品・化粧品・トイレットリー用添加剤8.5%より構成されている。このようにファーストガードMPは安全性の高い化合物のみで構成されている環境保全型防蟻剤である。

本製剤について以下のような野外実験と室内実験を行なって総合的な評価をした。

日本で経済的に大きな被害を生じているシロアリはイエシロアリとヤマトシロアリである。この2種のシロアリが活発に活動している鹿児島県と沖縄県の林内で野外試験を行なった。野外試験は社団法人日本木材保存協会規格第13号に準拠して行なった。その結果鹿児島県の試験場では試験開始6年後、沖縄県の試験場では試験開始3年後においても効力は持続している。なおデカン酸の濃度を半分で処理した場合、処理幅を30/45に縮小した場合も現在まで防蟻効力は持続している。

室内試験においては本製剤が社団法人日本木材保存協会が定める防蟻効力を発揮するために必要な最低処理濃度を求めるため、社団法人日本木材保存協会規格第13号に準拠して貫通試験を行なった。その結果、デカン酸濃度が初期の50%から1/5となった10%でも、その防蟻効力は規格を十分に上まわることがわかった。

さらにファーストガードMPの防蟻効力持続性を予測するために、床下土壌上または28℃恒温室内におけるファーストガードMP中のデカン酸の消失速度を測定した。その結果3年後のデカン酸の残存率は京都床下土壌上で93%、28℃恒温室内で62%であった。この値を用いて6年後の製剤中のデカン酸含有量をシュミレーションすると初期の50%に対して、京都床下においては

論文審査結果の要旨

46.2%、28℃恒温室においては19.4%となった。これらの値はいずれも必要最小処理濃度の10%を大きく上回っている。したがって使用規定通りに適正な処理を行えば、ファーストガードMPは少なくとも6年間、有効性100%の防蟻効力を持続すると推測された。

以上、天然物を利用した環境保全型防蟻剤の開発を目指して、種々の植物成分由来の化合物について防蟻効力・殺蟻力を検討し、ある種の脂肪酸エステル、脂肪酸およびアルコールに防蟻効力があることを見出した。そしてそれらの化合物の中から防蟻効力、効力持続性、安全性、価格、流通などを考慮してデカン酸を主成分として、木質系、食品添加物等安全性の高い土壌処理用防蟻剤(商品名ファーストガードMP)を創製した。

世界の森林資源の激減が続いている状況下では、木造建築物・木質製品の機能的耐久性を高め、その耐用年数をより長くすることにより、森林資源(森林それ自体や森林に由来する家具、建造物、パルプ等)の蓄積量を地球上に増やすことは、地球温暖化、水資源の枯渇、土砂の海洋への流失、異常気象等の地球環境悪化を抑制し、改善するのに極めて有効な手段となってきた。

シロアリはセルロース性材料や木質材料を最もひどく加害する生物集団の一つである。それゆえ、シロアリの食害から木質材料を保護する木材保存剤の利用は、不必要な木質資源の劣化・浪費を抑制し、木質材料の耐用年数を延ばすための魅力的な手段となってきた。

地球温暖化、化学物質による環境汚染、化石資源の枯渇等の地球環境悪化が加速度的に進行し、その悪化の規模・速度は地球に本来備わっている修復能力を上まわろうとしている。このような状況下にあつては、全ての製品はそのライフサイクルにおいて、地球環境にかける負荷量が可能なかぎり小さいものにならなければならない。植物が生産した天然物を直接利用して製剤化した製品は、そのライフサイクルにおいて、地球環境にかける負荷量が化石資源由来の化合物のそれよりはるかに小さい。

以上の観点から、本論文は天然物を利用した環境保全型防蟻剤の開発をめざして、種々の天然物のシロアリに対する防蟻効力・殺蟻効力について検討した。そして炭素数が10以下の脂肪酸、炭素数が14以下のアルコール、脂肪酸の炭素数が10以下で、アルコールの炭素数が4以下のものよりなる脂肪酸エステルが高い殺蟻効力を有することを発見した。つぎにその価格、安全性、効力持続性を考慮して、炭素数が10の脂肪酸であるデカン酸を主成分とする環境保全型防蟻剤の製造に着手した。そして、ファーストガードMPという商品名の環境保全型土壌処理用防蟻剤を創製した。デカン酸はヤシ油・パーム油から毎年大量に生産されていて、その有効利用方法の開発が求められていた物質である。ファーストガードMPはデカン酸50%、木質系担体39.5%、ヒバ中性油1.0%、ウコン1.0%、食品・化粧品・トイレットリー添加物1.0%より構成されている。これらの構成成分の大部分は植物由来の天然物である。残りの化合物も極めて安全性の高いものばかりである。

ついで本論文は、以下のような野外実験と室内実験を行ない本製剤の総合評価をした。

日本で木質材料に経済的大被害を与えているヤマトシロアリとイエシロアリが活発に活動している鹿児島県と沖縄県の林内で野外試験を行なっている。試験は社団法人日本木材保存協会規格第13号に準拠している。鹿児島県の試験場では試験開始6年後、沖縄県の試験場では試験開始3年後においても、防蟻効力は持続していた。

室内試験については、本製剤が社団法人日本木材保存協会が定める防蟻効力

を発揮するのに必要な最小処理濃度を見積もるための貫通試験を行なっている。貫通試験は社団法人日本木材保存協会第13号に準拠している。その結果、デカン酸濃度が初期濃度の50%からその1/5となった10%でも、その防蟻効力は規格を十分上まわることを明白にしている。

さらに本製剤の防蟻効力持続期間を見積もるために、床下土壌上と28℃恒温室内における製剤中のデカン酸の消失速度を測定している。その結果、3年後のデカン酸の残存率は京都床下土壌上で93%、28℃恒温室内で62%であることを明らかにしている。この残存率の値を用いて6年後の製剤中のデカン酸含有量をシュミレーションしている。それによると京都床下では初期の50%から46.2%、28℃恒温室内では19.4%に減少すると見積もっている。これらの値はいずれも必要最小処理濃度10%を大きく上まわっているので、使用規定通りに適正処理を行なえば、少なくとも6年間、有効性100%の防蟻効力を本製剤は持続すると推測している。

以上のように、本論文は天然物を利用した環境保全型防蟻剤の開発を目指して、種々の天然物の防蟻効力を検討し、デカン酸を主成分とする安全性が高く効力持続期間の長い環境保全型防蟻剤を創製している。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成17年2月22日、農学研究科委員会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。

氏名	岩井和也
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農第87号
学位授与の日付	平成17年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	コーヒー豆の機能性食品素材としての利用に関する研究
論文審査委員（主査）	教授 藤田 藤樹夫
	（副主査） 教授 駒井 功一郎
	（副主査） 教授 田中 裕美