

キトサン有効利用への模索

～カイコ飼育に応用し、特許出願～

愛媛県立今治工業高等学校 環境化学部

湯山 弥浩・吉田 健一・新田 剛史

指導者 井原 進一

1. はじめに

私たちの学校がある愛媛県今治市は、瀬戸内海に面した、水産業の盛んな地域である。真鯛をはじめとする魚類は身がしまっていておいしいとされている。また、ワタリガニやシャコエビなどの甲殻類も豊富に水揚げされ、この地域では日常的に食べられている。

このような地域に住む私たちは、身近なものを題材としたテーマで環境化学の研究を進めたいと考えていた。そこで思いついた実験が、「キトサンの精製」であった。カニやエビなどを食べ終わって残る殻は、普通ゴミとして捨てられる。そのままにしておくと、悪臭を漂わせ公害のもとにもなる。そこでその殻に着目することにした。

カニやエビの殻には、キチンという物質が豊富に含まれていることが知られている。私たちは、様々な甲殻類からキチンを抽出し、そのキチンからキトサンを調製し、利用方法を模索してきた。

今回は、これまでの研究内容の中で最も有効であった「カイコの生育におけるキトサンの影響」について報告することにした。

2. 研究動機

「オオクワガタを大きくしたい」

これが始まりだった。

オオクワガタは、1mm大きいだけで値段が数万円も跳ね上がることを知った。そこでオオクワガタを大きく成長させる効果を持つ物質を自然界に求め、以前に精製経験がある「キトサン」という物質にたどりついた。しかしオオクワガタは幼虫の期間が2年間あることやコストの面で、学校で研究する対象としてはあまり適さないということになった。そこで顧問の先生の勧めで、やむを得ず、カイコを使用することにした。

カイコは、幼虫の期間が1ヶ月ほどと短く、生理学や飼育法の研究が進んでいるという理由からであった。

3. 実験方法

1. キトサンの精製

カニやエビの殻、イカの軟甲等を丁寧に水洗いし、乾燥させ、細かく切断した。炭酸カルシウムを除去するために2N塩酸に48時間漬けた後、タンパク質を除去するために、1N水酸化ナトリウムで36時間煮つめた。また、必要に応じて色素を除去するために次亜塩素酸ナトリウムに漬けた。それを乾燥させたものをキチンとした。キチンをフラスコに入れて、還流管を取付け、40%水酸化ナトリウムで115℃、6時間煮つめ、それをよく水洗いし乾燥させたものをキトサンとした。キトサンを希酢酸に溶かし、そのキトサン溶液を水酸化ナトリウムで

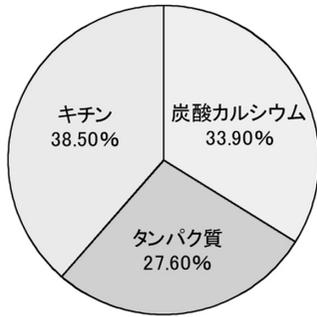


図1 イカ軟甲の成分組成

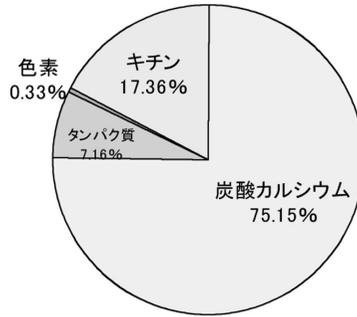


図2 ワタリガニ甲羅の成分組成

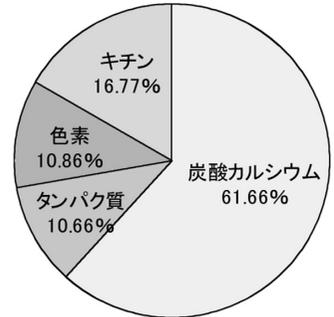


図3 シャコエビ殻の成分組成

中和し、キトサンをコロイド状にした。このコロイド状キトサンを透析チューブ（「ダイアライシスメンブラン36」和光純薬工業株式会社）に入れ、脱塩を行った。キトサンは、難溶性であるが、95%以上脱アセチル化されたキトサンであれば薄い酸に可溶であるので、キトサンになっているか確かめられる。さらに高純度のキトサンを得ると、純度をそろえるために、コロイド状キトサンにしている。（本実験は、キチン・キトサン実験マニュアル：技報堂出版1～17ページを参考にした。）

2.キトサン添加飼料によるカイコの飼育方法

カイコ飼育用人工飼料（「シルクメイト2S」日本農産株式会社）をバットに出し、市販キトサンを、様々な濃度になるように加え、よく練り込んだ。密閉容器に入れ、冷蔵庫で保存した。愛媛県農業試験場よりいただいたカイコ（芙・蓉×つくば・ね）を孵化させ、キトサン添加人

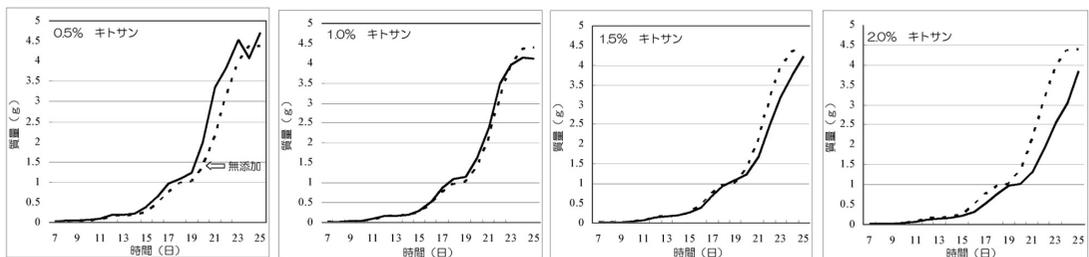
工飼料を入れておいた飼育箱（250mm×325mmポリプロピレン製）の中に、孵化したカイコの幼虫を50頭ずつ移した。その後、繭化するまでの約1ヶ月間にわたり、質量変化、生存率などを調査した。全飼育箱に同質量の飼料を与え、飼料の質量による生育の差がないようにした。

4. 結果

1.キトサン精製実験

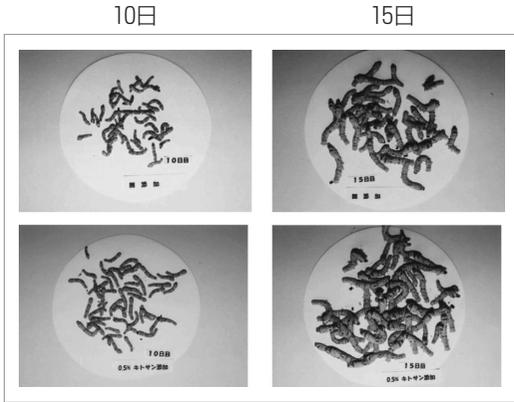
私たちは、これまでにイカ軟甲、ワタリガニ甲羅、シャコエビ殻を原料にしてキトサンの調製実験を行い、すべての原料よりキトサンを調製することができた。原料の組成成分の主なもの、炭酸カルシウム、タンパク質、色素、キチンであり、キチンを脱アセチル化することによりキトサンを得た。それぞれの原料の成分組成は図1～図3の通りである。

これまでの精製実験からキトサンを精製する



実線はキトサン添加飼料での飼育、破線は無添加での飼育

図4 キトサン濃度別カイコの質量変化



上段が無添加，下段が0.5%キトサン添加
 図5 無添加と0.5%キトサンで飼育したカイコの比較

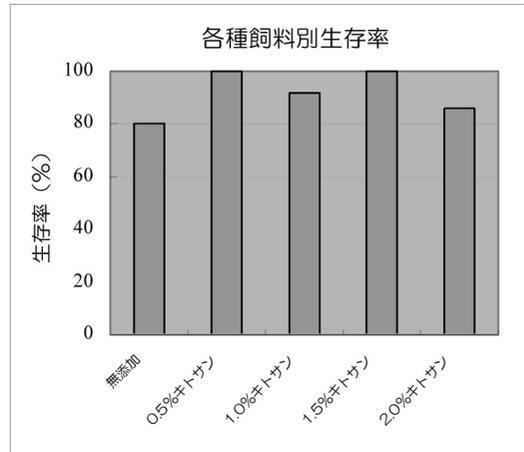


図7 キトサン添加人工飼料の生存率

のに有効なのは、イカ軟甲から精製したキトサンだと考えられた。

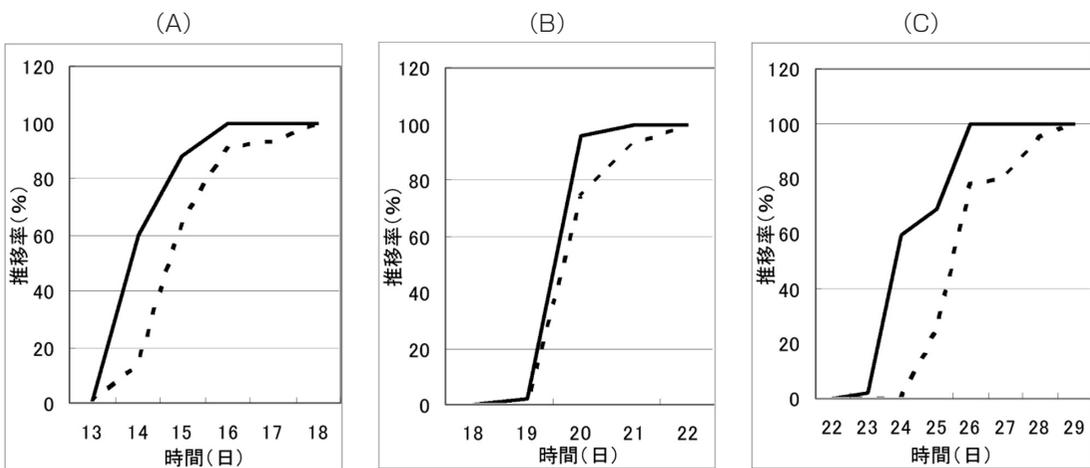
2.キトサン添加人工飼料によるカイコの飼育結果 (前ページ図4)

これまで実施した実験結果では、平成14年度の0.5%キトサン添加が最も質量増加が大きかった。

1.0%キトサンでは無添加とほぼ同様な質量増加を示し、1.5、2.0%では、無添加よりも質量増加傾向は低い値となった。このことで、キト

サンの濃度が高すぎると、質量増加につながらないばかりか、質量低下につながる事が分かった (図5)。

また、実際のカイコを観察していても、無添加と0.5%キトサンを比較すると、少しであるが、確実に巨大化していることが分かった。質量が増加したので、ここで当初の目的であった、昆虫の巨大化が成功したと思われたが、0.5%キトサンについての3令から繭化までの推移率をグラフで表した結果、図6のような結果となった。



(A) 3令から4令までの推移率，(B) 4令から5令までの推移率，(C) 5令から繭化までの推移率。
 実線は0.5%キトサン添加飼料での飼育，破線は無添加での飼育。

図6 蚕の4令，5令，繭化への推移

無添加に比べ0.5%キトサンを与えたカイコの推移率は、どの令からの推移でも約3日間短縮されたことが分かった。このことは、巨大化ではなく早熟化、すなわち生育促進効果があったということである。

生存率については、5種類の濃度の人工飼料のうちキトサン添加人工飼料を与えたすべてのカイコにおいて、無添加よりも上回っていた(図7)。これらの実験は、気温等の条件に大きく影響され、実施年度によってキトサン最適濃度は変化するようである。しかし、キトサンを添加すれば、育成促進効果があることは間違いない。

5. 考察

この実験で得られた現象の利用価値を模索しているうちに、ある新聞記事を目にした。その新聞には「バイオ新産業 カイコが働く」という大きな見出しとともに、数多くのカイコ利用の可能性と有用性が書かれていた。特に印象的であったのは、インターフェロン遺伝子を保有したバキュロウィルスでカイコを形質転換し、そのカイコの体内でインターフェロンを生産させているという点であった。すなわち、カイコを工場として利用するということである。インターフェロンは、癌や肝炎などの薬剤として知られている。そこで私たちが発見した「キトサンによるカイコの生育促進方法」を「昆虫工場」になるカイコに利用できれば、インターフェロンなどの高価で貴重な薬剤を、難病で困っている多くの人々や動物に、より安価で提供することができる可能性を秘めていることが分かった。

6. おわりに

遊び心から発した、「オオクワガタを大きくしてみんなを驚かせてやろう」という先輩方の思いは、私たち環境化学部の中で「カイコで産業に貢献する」という野望へと成長した。

今、産業としての養蚕業は衰退している。多

くの伝統産業が衰退しているように古い産業は廃れていく運命にあるのかもしれない。でも私たちは、「温故知新」という言葉があるように、カイコ(古いもの)に、新しい可能性を感じている。私たちの研究が、衰退している産業を救うだけでなく、バイオ新産業という最先端の分野に貢献できるのかもしれないのである。「イカの軟甲やシャコエビ、ワタリガニの殻というゴミ」、「廃れ行く養蚕業の中で、役割が終わったとされていたカイコ」というように目の前のあらゆるものが研究対象になりうるという、研究者にとって当たり前であり大切な姿勢を、今回の研究を通して実感し学んだような気がする。

本研究においてカイコの飼育に関しては愛媛県農業試験場生産環境室主任研究員の密田和彦先生や、キトサン精製に関しては愛媛県工業技術センター食品加工室の宮岡俊輔先生に指導助言をいただいた。また、地域の多くの方々に、カニやエビの殻そしてイカの軟甲の回収に御協力いただいた。

今回の報告を含めた一連の当研究に関する内容を、平成16年度パテントコンテストに出品し、特許申請支援対象作品として選出していただいた。そして、弁理士さんの御協力を得て、明細書を制作し、平成17年3月29日に特許出願した。一刻も早い認可を願っているところである。

最後に、御支援いただいた多くの方々に感謝申し上げて、本報告書のまとめとしたい。

