

球状バクテリアセルロースゲルの調製

Preparation of Spherelike Bacterial Cellulose

○柿沼祐香¹, 星徹², 萩原俊紀², 澤口孝志², 矢野彰一郎²*Yuka Kakinuma¹, Toru Hoshi², Toshiki Hagiwara², Takashi Sawauchi², Shoichiro Yano²

Abstract: Bacterial cellulose (BC) gels are produced by *Gluconacetobacter Xylinus*. BC gels are a high-purity cellulose material with the fine network structure and hydrophilicity. Therefore, application of BC gels is expected in various fields. However, BC gels are limited in many application fields because the molding of the BC gel is difficult. Regenerated BC gels obtained from BC gels are very weak. In this study, we were intended to acetic cultured in a droplet (culture solution) to obtain the BC spherical gel in hydrophobic liquid.

1. 緒言

セルロースとは植物の細胞壁の主成分であり、地球上で最も存在量が多い天然高分子である。その中でバクテリアセルロース(BC)ゲルは酢酸の醸造に用いられる酢酸菌の1種(*Gluconacetobacter Xylinus*)により生産され、高純度のセルロースから成る。BCの構造の基礎骨格は植物から生産されるセルロースと同じであるが、菌から分泌されたセルロースのマイクロフィブリルがそのままの太さで微細な網目構造を形成している。そのため、BCのマイクロフィブリルの太さは植物系セルロースの約100~1000分の1と非常に細い。

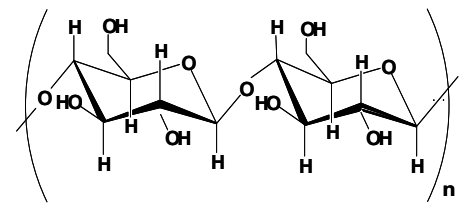


Fig. 1 The structure of Bacterial cellulose.

またBCゲルは生分解性や保水性に優れており、この特徴を生かし、人工血管や分離膜などの医療材料への利用も検討されている。

しかし、BCゲルの形状は培養時の容器形状に依存し、調製後の成形が困難である。またBCゲルは任意の形状への切り出しが難しく、応用される分野が限られる。球状BCゲルは薬剤カプセルなどの医療分野への応用が期待され、目的に適した形状でのゲルの生成が求められる。最近、任意の形状に成形したBCゲルの調製方法が多少ではあるが報告された^{1,2)}。球状のBCゲルを得る場合、①攪拌しながら培養する、②培養液を球状にして培養する、の2通りが考えられる。攪拌培養によって得られる球状BCゲルは、サイズが小さいほど形状や大きさの揃ったゲルを調製するのが困難である¹⁾。本研究では、疎水性の液体中に培養液を滴下させ、液滴(培養液)中で酢酸菌を培養し、球状BCゲルを得ることを試みた。

2. 実験操作

斜面培地への植菌や培養液、母液の調製方法については既報に従って行った³⁾。その後、無菌操作でテフロンシャーレにそれぞれシリコンオイルとサラダ油を入れ、マイクロピペットを用いて培養液を10~90 μ Lまで10 μ L間隔で変化させて滴下し球状のまま30 $^{\circ}$ Cで7日間静置培養を行った。7日後、殺菌洗浄し生成したBCゲルの内部を観察した。

また、シリコンオイルとサラダ油でのBCの生成速度への影響を調べるため、試験管に培養液10mL、母液10mLを加えた後シリコンオイルまたはサラダ油を高さ1cmになるように入れ静置培養を行った。2日毎に生成したBCゲルを取り出し洗浄した後、減圧乾燥しBCの重量を測定した。サンプリングは1回の測定につき2回行った。

さらに、培養液を球状に保ったまま培養を行うために比重の異なるシリコンオイルを2種類使用した。この2つのオイルは非相溶であり、比重の調整はできなかつたため、無菌操作で、比重1.07のシリコンオイル(主成分:フェニルメチルシロキサン)に培養液を滴下した後、蓋をするように比重0.96のシリコンオイル(主成分:ジメチルシクロキサン)を加え、30 $^{\circ}$ Cで7日間静置培養を行った。

3. 結果

Fig.2(a)(b)にシリコンオイル中とサラダ油中で培養したBCゲルを示す。滴下量によってサイズは異なるが半球状の

1: 日大理工・学部・応化、 2: 日大理工・教員・応化

ゲルが生成し、精製したゲルの内部は中空状であった [Fig.2(c)(d)]. サラダ油中での培養と比較するとシリコーンオイル中で培養した BC ゲルの方がより白く、セルロース繊維の生成量は多くなったと考えられる。

Fig.3 に、シリコーンオイルまたはサラダ油を加えて試験管内で培養した経過日数に対するセルロースの生成量を示す。Run1,2 は 2 回サンプリングした結果を、Average は Run1 と Run2 の平均値である。グラフより、シリコーンオイルを加えて培養した時の方が培養日数に対して生成するセルロース量が多くなっていることがわかる。酢酸菌は好気性細菌であるため、酢酸菌を用いてセルロースを生成するには酸素が必要である。培養実験では同じ培養液を用いたため、培養液中の溶存酸素量は同じであると考えられる。シリコーンオイルとサラダ油は化学構造や性質などが異なるが、その中でも酸素透過性に大きな差があり、シリコーンオイルの方が酸素透過性は大きい。よって、シリコーンオイルを添加して培養を行っても培養液中の溶存酸素に加えて外気からの酸素を多く透過し、酢酸菌の代謝が活発に起こり、セルロースが多く生成したと思われる。

培養液の比重は約 1.02 であり、サラダ油とシリコーンオイルの比重はそれぞれ 0.91, 0.96 と培養液より小さいため、油中に滴下した培養液は容器の底に沈み、形状が半球状になる。そこで完全な球状 BC ゲルを調製するために、比重の異なるシリコーンオイルを 2 種類使用し、2 層で培養を行った場合の結果を Fig.4 に示す。これは上部と下部で異なる種類のシリコーンオイルを用いたことにより、性質や酸素透過性が異なったためオイル同士の界面で形状およびサイズの異なる BC が生成した。また、2 層にしたことにより今までの実験で容器の底に付いていたため、半球状になっていたが、球体状の BC が生成した。

しかし、得られた BC ゲルの形は球形ではなかった。テフロンシャーレを用いて同条件で実験を行ったところ、滴下した培養液はすぐに集まり大きな塊となってしまったことから、層の間に浮かべた液滴は少しの振動でも簡単に動いてしまうと思われる。よって、7 日間培養を行ったときにインキュベーターの扉の開閉による振動で培養液が培養中に揺れてしまい、途中で塊となったために球形にはならなかったと考えられる。今後、容器の中に 1 滴のみ滴下して培養する方法や容器内で仕切りを用いて個々に培養し、培養液同士が集まることを防ぐ方法の検討を行う。

4. 参考文献

- [1] Y. Hu et al., *Biomacromolecules*, 2010, **11**, 1727-1734
- [2] A. Putra et al., *Polymer*, 2008, **49**, 1885-1891
- [3] 星 徹ら, 高分子論文集, 2010, **67**, 318-325

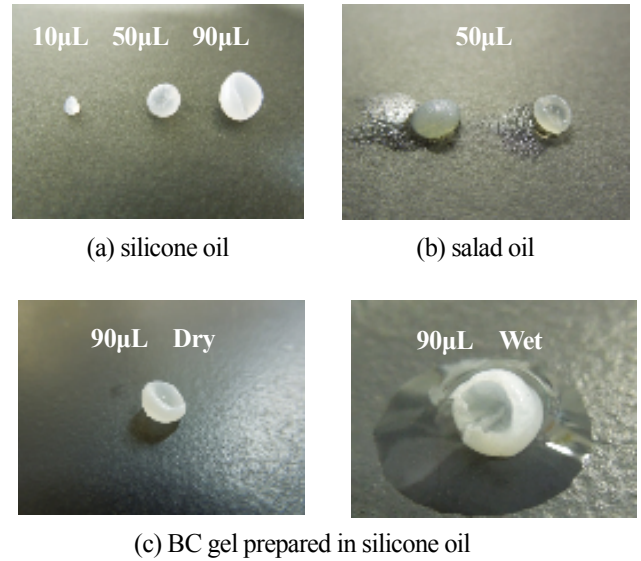


Fig. 2 Culturing in silicone oil and salad oil for 7days.

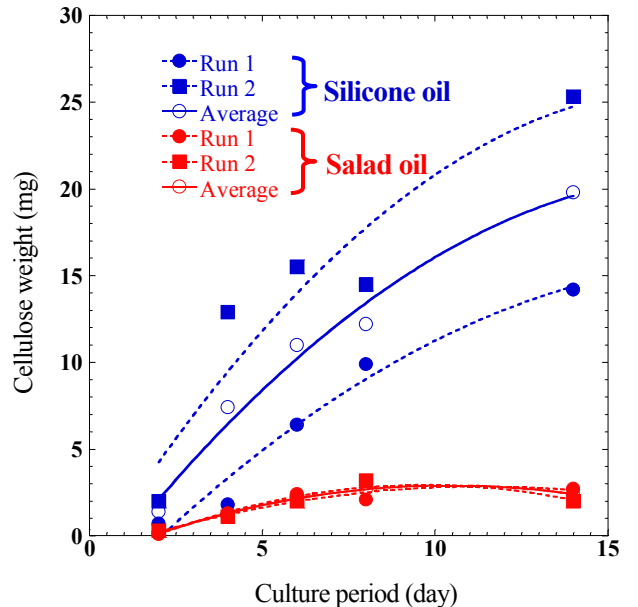


Fig. 3 Change in cellulose weight during culture period.

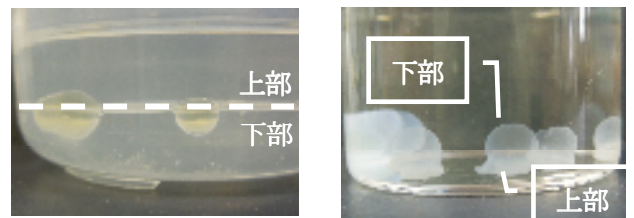


Fig.4 Culturing in silicone oil for 7days