博 士 学 位 論 文

論文内容の要旨
及 び
論文審査結果の要旨

平成23年9月授与

宮 崎 大 学 大 学 院
農 学 工 学 総 合 研 究 科

学位規則（昭和28年4月1日文部省令第9号）第8条の
規定に基づき、平成23年9月に博士の学位を授与した
論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を公表する。

学位記番号	学位の種類	(ふりがな) 氏　　名	本籍	専　攻 教育　コース	授与 年月日	博士論文名	主指導教員
農工総博甲第29号	博士(農学)	冨阪（トミサカ）　吉登（ヨシト）	大分県	資源環境科学専攻 持続生産科学教育コース	H23.9.20	Postmortem Proteolysis of Cytoskeletal Protein Talin （細胞骨格タンパク質タリンの死後分解に関する研究）	六車　三治男
農工総博甲第30号	博士(農学)	鍋西（ナベニシ）　久（ヒサシ）	宮崎県	資源環境科学専攻 持続生産科学教育コース	H23.9.20	Studies on the Effects of Heat Stress on the Maturational and Developmental Competence of Bovine Oocytes （ウシ卵母細胞の成熟および発生能に及ぼす暑熱負荷の影響に関する研究）	續木　靖浩
農工総博甲第31号	博士(農学)	Krishna（キリスナ） Lal（ラル） Poudel（ポウデル）	ネパール	資源環境科学専攻 環境共生科学教育コース	H23.9.20	Economic Analysis of Organic Coffee Production in Rural Hill Region of Nepal （ネパール山間地域における有機コーヒーの経済分析）	山本　直之
農工総博甲第32号	博士(工学)	田畑（タバタ）　宏（ヒロシ）	奈良県	生物機能応用科学専攻 生命機能科学教育コース	H23.9.20	Studies on the Effects of Alkaline and/or Photo-catalytic Pretreatments on the Enzymatic Saccharification of Ligneous Kudzu (*Pueraria lobata*) Stalks and Herbaceous Napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach) (木質系クズ茎部および草本系ネピアグラスの酵素糖化へのアルカリ前処理及びアルカリ/光触媒前処理効果に関する研究)	林　幸男
農工総博甲第33号	博士(学術)	桑原（クワハラ）　塁（ルイ）	奈良県	生物機能応用科学専攻 水域生物科学教育コース	H23.9.20	ウニ殻色素の抗酸化活性とそのHPLCを用いた分離・定量法に関する研究	幡手　英雄
農工総博甲第34号	博士(工学)	松本（マツモト）　朋子（トモコ）	宮崎県	物質・情報工学専攻 新材料ｴﾈﾙｷﾞｰ教育コース	H23.9.20	共焦点レーザー顕微鏡を活用した微小領域分光分析法の開発と応用	保田　昌秀

氏　　名	冨阪　吉登
本　　籍	大分県
学位記番号	農工総博甲第 29 号
学位の種類	博士（農学）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	資源環境科学専攻
教育コース	持続生産科学

学位論文題目

Postmortem Proteolysis of Cytoskeletal Protein Talin　（細胞骨格タンパク質タリンの死後分解に関する研究）

学位論文審査委員

主査　教　　授　六車三治男
副査　教　　授　芦澤幸二
副査　准教授　續木靖浩
副査　教　　授　森田哲夫
副査　准教授　河原　聡

主指導教官

教　授　六車三治男

別紙様式３

学位論文の要旨

フリガナ 氏　　名	トミサカ　ヨシト 冨阪　吉登
専　　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 資源環境科学　専攻 平成１９年度（１０月）入学
学位論文 題　　目	Postmortem Proteolysis of Cytoskeletal Protein Talin （細胞骨格タンパク質タリンの死後分解に関する研究）

【論文の要旨】（和文の場合1, 200字程度、英文の場合８００語程度）

In skeletal muscle fibers, cytoplasmic protein talin is localized in costameres and myotendinous junctions. Degradation of costameres may significantly weaken muscle structure. Therefore, degradation of the costameric protein talin during postmortem aging may play a role in meat quality traits such as tenderness and water-holding capacity. However, until recently, most studies in meat science have focused on the function of talin as a single protein, regardless of non-redundant roles between talin 1 and talin 2. In this study, I aimed to determine expression levels and postmortem changes in talin 1 and talin 2 in chicken muscle in an effort to elucidate their potential influence on meat quality, and to identify a potential enzyme responsible for the degradation of talin 1 and talin 2 during postmortem aging.

I examined the expression and localization of talin in a chicken biceps femoris muscle and gizzard using the clone 8d4 antibody in western blotting and immunohistochemical staining. Western blotting and immunohistochemical staining showed that the talin was labeled by 8d4 in the gizzard, but it was hardly visible in the biceps femoris. In the gizzard, immuno-labeling was observed around smooth muscle cells. These results suggest that smooth muscle talin may influence the quality of meat by-products.

Next, I examined the water-holding capacity, toughness and the changes of cytoskeletal proteins in smooth muscle that occur during postmortem storage at 4°C. Consequently, it was suggested that protein degradation in chicken gizzards is related to water-holding capacity. Expression of talin 1 mRNA was significantly higher while that of talin 2 was significantly lower in the gizzard than in the pectoralis major. Expression of talin 1 in the gizzard was also significantly higher than in the biceps femoris and heart. In western blotting using 8d4, anti-talin2 or TA205 antibody, only anti-talin2 could detect talin in the pectoralis major and biceps femoris. Microscopy also showed that talin labeled by anti-talin2, but not 8d4 was located around muscle fibers in the biceps femoris. Furthermore, intact talin band labeled by anti-talin2 within chicken biceps femoris muscle was rapidly diminished during postmortem storage.

My findings propose that the degradation of talin 2, but not talin 1, in chicken skeletal muscle may influence the quality of chicken meat. Talin 2 in the pectoralis major and biceps femoris were degraded during the early postmortem period, but that in the gizzard and heart were not degraded. Desmin in the pectoralis major was degraded faster than in the others. The ratio of calpain 1 mRNA levels to calpastatin seemed to correspond to the postmortem degradation of desmin. The ratio of calpain 2 to calpastatin and the ratio of calpain 3 to housekeeping gene (ribosomal protein, large, P1) seemed to correspond to the postmortem degradation of talin 2. Desmin in the isolated myofibrils of the skeletal muscles was degraded with 5 mM Ca^{2+} and not degraded with leupeptin, the ubiquitous calpain inhibitor. However, talin 2 was degraded with 5 mM Ca^{2+} and leupeptin. Desmin and talin 2 in the heart were not influenced by 5 mM Ca^{2+}. Furthermore, talin 2 was degraded with 1 μM Ca^{2+} at 4°C, but desmin was not. Therefore, we propose that talin 2 is degraded by calpain 3 during postmortem storage.

Thus, I demonstrated that talin, which is likely to be the talin 1 isoform, is located around smooth muscle cells in chicken gizzard, and that it is degraded during postmortem storage. Its degradation may influence the textural properties and water-holding capacity in meat by-products. Moreover, I demonstrated that the talin 2 isoform is expressed predominantly in chicken skeletal muscle, and that it is degraded during early postmortem storage.

I suggested that postmortem proteolysis of costamere protein talin 2 may influence the chicken meat quality traits, and that talin 2 degradation is mediated by calpain 3. Consequently, I demonstrated distinct roles for the talin 1 and talin 2 isoforms in the quality of meat products.

(注1) 論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
(注2) フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
(注3) 学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
(注4) 和文又は英文とする。

別紙様式7

平成２３年　7月１３日

論文審査結果の要旨

専　　攻 入学年度	農学工学総合研究科　資源環境科学　専 攻 平成１９年度（１０月）入学	氏 名	冨阪　吉登
論文題目	Postmortem Proteolysis of Cytoskeletal Protein Talin （細胞骨格タンパク質タリンの死後分解に関する研究）		

審査委員職・氏名	主　査	教　授・六車　三治男
	副　査	教　授・芦澤　幸二
	副　査	准教授・續木　靖浩
	副　査	教　授・森田　哲夫
	副　査	准教授・河原　聡

審査結果の要旨（８００字以内）

細胞骨格タンパク質タリンは、骨格筋細胞のコスタメア（接着部）や筋腱接合部に位置し、細胞膜タンパク質インテグリンや、アクチンと相互作用をしている。また、タリンは内因性プロテアーゼ・カルパインによって死後分解されることが知られており、タリンの死後分解は食肉の柔らかさや保水性といった肉質と密接に関連すると考えられている。近年、タリンには２つのアイソフォームタリン１およびタリン２が存在していることが明らかとなったが、食肉の肉質におけるタリン１およびタリン２のそれぞれの役割は不明である。そこで、本研究ではタリン１およびタリン２のニワトリ骨格筋、心筋および平滑筋における局在、タリン１とタリン２の死後分解の程度とカルパイン１、２、３およびカルパイン１、２の阻害剤であるカルパスタチンの発現量について調べ、肉質との関連について検討した。

まず、平滑筋におけるタリンの局在を調べたところ、細胞の周囲に局在することが示された。そこで、平滑筋である砂のう筋のデスミン、ビンキュリン、タリンの死後分解とその硬さおよび保水性の変化について調査した。その結果、タリンの死後分解と砂のう筋の硬さおよび保水性の死後変化との間に関連があることが推察された。次に、タリン１およびタリン２の mRNA の発現量解析の結果、骨格筋ならびに心筋ではタリン２が、平滑筋ではタリン１が優先的に発現していることが示された。また、骨格筋タリンの局在を数種の抗体を用いて検討したところ、タリン２特異的抗体によって骨格筋タリンを検出することができた。さらに、タリン２が死後早期に分解することも明らかにし、タリン２の死後分解が肉質と関与することを示唆した。最後に、骨格筋、心筋および平滑筋におけるタリン２の死後分解とカルパイン１、２、３およびカルパスタチンの活性量との関係から、骨格筋タリン２がカルパイン３によって死後分解することを見出した。これらの結果から、骨格筋においてはタリン２の、平滑筋においてはタリン１の死後分解が、これらの肉質に関わっていることを明らかにした。

以上のように本論文の成果は、鶏肉の柔らかさや保水性といった肉質の発生要因の一端を解明することができており、肉質の改善に貢献するものと高く評価できる。よって、本論文は，博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判断した。

(注) 論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

氏　　名	鍋西　久
本　　籍	宮崎県
学位記番号	農工総博甲第 30 号
学位の種類	博士（農学）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	資源環境科学専攻
教育コース	持続生産科学

学位論文題目

Studies on the Effects of Heat Stress on the Maturational and Developmental Competence of Bovine Oocytes（ウシ卵母細胞の成熟および発生能に及ぼす暑熱負荷の影響に関する研究）

学位論文審査委員

主査	准教授	續木靖浩
副査	教　授	芦澤幸二
副査	教　授	森田哲夫
副査	教　授	六車三治男
副査	教　授	長谷川信美

主指導教官

准教授　續木靖浩

別紙様式３

学位論文の要旨

フリガナ 氏　　名	ナベニシ　ヒサシ 鍋西　　　久
専　　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 資源環境科学専攻 平成 20 年度（10 月）入学
学位論文 題　　目	Studies on the Effects of Heat Stress on the Maturational and Developmental Competence of Bovine Oocytes （ウシ卵母細胞の成熟および発生能に及ぼす暑熱負荷の影響に関する研究）

【論文の要旨】（和文の場合1,200字程度、英文の場合800語程度）

It is well known that the productivity of livestock is deeply influenced by the environmental factors including ambient temperature, humidity and wind speed surrounding them. Recently, the serious inhibition of reproductive events such as estrus and conception in cattle during hot period (summer), not the cool period (winter), is founded in worldwide, and this seems to be deeper in high lactating dairy ones.

Miyazaki prefecture is located in southwestern Japan and is an active dairy production area. Although the annual average temperature in the area is around 18°C, not only the temperature rise to nearly 40°C, but also the highest humidity is beyond 80% during the hot period. As a result, it is postulated that reproductive events such as conception of the lactating dairy cattle in our prefecture may be more greatly influenced by heat stress during hot period than in other areas. However, the relationship among the environmental factors and the conception rates of lactating dairy cattle in our area has not yet been reported. Therefore, the present research was undertaken to investigate the relationship between the conception rate of lactating dairy cattle and the temperature-humidity index (THI) in our prefecture, and evaluate the efficacy of a low thiol compound and an inhibitor for apoptotic response to avoid the cellular damages of heat stressed oocytes.

When the conception rates of the 11,302 lactating dairy cattle and the maximum THI (mTHI) at the first service of their artificial insemination (AI) in Miyazaki prefecture were combined, only the rate of the group which exposed mTHI over 80 at 1 day before AI was significantly decreased than those of the other groups. In addition, the vaginal temperature of the cattle and mTHIs were measured at one hour intervals for 25 consecutive days in both hot and cool periods and combined with the conception rates with mTHIs mentioned above. As a result, there was a significant positive correlation between the mTHI and the mean vaginal temperature in the hot period, but not the cool period. When the relationship among the conception rates, the

vaginal temperatures and mTHI was analyzed, the vaginal temperature started to increase at the mTHI 69. In addition, the vaginal temperatures of the cattle, exposed to mTHI > 80, increased 0.6°C from 38.7°C resulted in a decrease of 11.6% in the conception rate from 40.5% was calculated. With these investigations, it is suggested that mTHI may be one of the powerful makers to reveal the heat stress for lactating dairy cattle during hot period, and higher mTHI may induce the elevation of maternal core body temperature and disturb the `oocyte maturation resulted in decrease the conception rate after AI.

The cattle's oocytes were exposed *in vitro* to 1 μM cyclosporin A (CsA), an inhibitor for mitochondrial membrane permeability transition pore, before exposure to heat stress (39.5°C for 5 h, 40.0°C for 5 h, 40.5°C for 6 h, and 40.0°C for 4 h versus 38.5°C for 20 h as the control group) mimicking the circadian rhythm of the lactating dairy cattle during hot and cool periods mentioned above. As results, both the decreased mitochondrial activity and increased apoptotic response level, not reactive oxygen species (ROS) level, of the heart stressed oocytes were significantly improved by CsA treatment comparing to those of the control group. However, both decreased nuclear maturation rate and embryonic development rate of heat stressed oocytes were slightly improved by the CsA treatment compared with those of the control group. With these results, it is suggested that the CsA treatment may not be a powerful method to solve the decrease of oocyte's maturational and developmental competence under heat stress.

To improve these competence, the various concentrations of cysteine (a low thiol, 0, 0.6, 1.2 and 1.8 mM) were added to the maturation medium of the oocytes under heat stress. As results, both the decreased nuclear maturation rate and the embryonic development of the heart stressed oocytes were recovered to those of the control group, when 1.2 mM cysteine, two fold higher concentrations than generally used, was added to the medium. In addition, although the heat stressed oocytes showed significantly higher ROS and apoptotic response level and significantly lower glutathione level than those of the control group, these were highly improved by the addition of 1.2 mM cysteine comparing to those of the control group. These results indicate that the addition of 1.2 mM cysteine during oocyte maturation may alleviate the negative influence of heat stress for cattle oocyte's maturational and developmental competence by increasing the glutathione level and inhibiting the production of ROS and apoptotic response of the oocytes.

In conclusion, the high mTHI over 80 at 1 day before AI in hot period may increase maternal core body temperature of lactating dairy cattle followed by the decrease of the oocyte's maturational and developmental competence, and these could be avoided by the cysteine. Furthermore, these findings can be contributive for controlling reproductive events of cattle under heat stress during summer in southwestern Japan including Miyazaki prefecture.

(注1) 論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
(注2) フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
(注3) 学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
(注4) 和文又は英文とする。

別紙様式7

平成２３年　7月１３日

論文審査結果の要旨

専　　攻 入学年度	資源環境科学　専　攻 平成２０年度（１０月）入学	氏名	鍋西　久
論文題目	Studies on the Effects of Heat Stress on the Maturational and Developmental Competence of Bovine Oocytes （ウシ卵母細胞の成熟および発生能に及ぼす暑熱負荷の影響に関する研究）		

審査委員職・氏名	主　査	准教授・續木　靖浩
	副　査	教　授・芦澤　幸二
	副　査	教　授・森田　哲夫
	副　査	教　授・六車三治男
	副　査	教　授・長谷川信美

審　査　結　果　の　要　旨（８００字以内）

宮崎県を含む西南暖地は日本有数の酪農地帯であるが，高温多湿の気候であることから，夏季における当地域での搾乳ウシの繁殖性低下は，他の地域に比べてより甚大であると示唆されている。本研究は，繁殖性の一つである受胎率に着目し，まず宮崎県内の搾乳ウシの受胎率と温湿度指数との関係について検討した。次いで受胎率低下原因の一つと推察される卵母細胞の成熟時における暑熱負荷に対して，アポトーシス阻害剤やチオール類の添加が及ぼす回避効果について追究した。以下，その概要を述べる。

１．県内の搾乳ウシに人工授精を施した際の温湿度指数と受胎率との関係を解析した結果，授精１日前に指数が最高 80 を越えると，他の区に比べて受胎率が有意に低下することが明らかになった。また夏季と冬季のそれぞれに，搾乳ウシの膣温と温湿度指数について測定したところ，夏季において平均膣温と最高指数との間に高い正の相関が見られた。これらの指数と膣温を，先の解析で用いた指数と受胎率とに重ね合わせると，温湿度指数が最高 80 を超えると膣温は 38.7℃から 0.6℃上昇し，受胎率は 40.5%から 11.6%減少すると試算された。

２．ミトコンドリア膜遷移孔を阻害することでアポトーシス反応を阻止する効果を有するシクロスポリンＡでウシ卵母細胞を処理し，暑熱負荷を与えながら成熟培養を施した場合の，核成熟や受精後の胚発生について検討した。またミトコンドリア膜電位，活性酸素種やアポトーシス・レベルについても追究した。暑熱負荷は，上記１の実験で得られた搾乳ウシの１日の変動膣温を培養環境下で再現したものである。その結果，暑熱負荷区で有意に減少するミトコンドリア膜電位や，有意に増加するアポトーシスは，シクロスポリンＡ処理により双方とも対照区のレベルにまで回復した。しかし，卵母細胞の核成熟や受精後の胚発生割合の改善はわずかであった。

３．システイン添加が，同様の暑熱負荷を与えたウシ卵母細胞に及ぼす影響について検討した。その結果，暑熱負荷により低下する核成熟や胚発生の割合は，一般的な培養液濃度の２倍にあたる 1.2 mM のシステインを添加することで，いずれも対照区のレベルにまで回復した。またアポトーシスや活性酸素種のみならず，システインが合成に関与しているグルタチオンも対照区のレベルと同等になった。これらのことから，1.2 mM システイン添加は，暑熱負荷によるウシ卵母細胞の核成熟や胚発生能に対する負の影響を回避できるものと推察された。

以上のように本論文の成果は，本県を含む西南暖地における夏季のウシ繁殖性低下阻止に寄与しうるものと高く評価できる。よって本論文は，博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判断した。

（注）論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

氏　　名	Krishna Lal Poudel
本　　籍	ネパール
学位記番号	農工総博甲第 31 号
学位の種類	博士（農学）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	資源環境科学専攻
教育コース	環境共生科学

学位論文題目

Economic Analysis of Organic Coffee Production in Rural Hill Region of Nepal （ネパール山間地域における有機コーヒーの経済分析）

学位論文審査委員

主査	教　授	山本直之
副査	教　授	杉本安寛
副査	教　授	西脇亜也
副査	教　授	甲斐重貴
副査	准教授	宇田津徹朗

主指導教官

教　授　山本直之

別紙様式3

学位論文の要旨

フリガナ 氏　名	キリスナ　ラル　ポウデル Krishna Lal Poudel
専　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科　博士後期課程　資源環境科学専攻 平成　20年度（10月）入学
学位論文 題　目	Economic Analysis of Organic Coffee Production in Rural Hill Region of Nepal （ネパール山間地域における有機コーヒーの経済分析）

【論文の要旨】（和文の場合1,200字程度、英文の場合８００語程度）

The predominantly agricultural Nepalese economy has always put priority on high-value cash crops. Organic coffee has recently been recognized as such a cash crop to improve rural livelihoods in the mid-hill regions of Nepal. The climate enables people living in the mid-hill regions to practice organic farming. Organic coffee encompasses 15% of total domestic coffee production. The coffee cultivating area and production are increasing by 14 and 13% per year during last decade respectively. Coffee has been growing with fruit crops in lower region and with fodder tree in upper region.

Organic production systems differ from conventional systems with respect to the application of farm management activities such as applying no contaminated irrigation water, disinfectant utensils for harvesting and processing the coffee bean. Organic coffee is remunerative in farming because of better cupping quality and marketing premium. However, farmers lack bookkeeping skills. Similarly, research on coffee farming activities in the middle-hill regions with respect to climate, farm size variability, and effective input management techniques for sustainable coffee production has not been sufficient. The purpose of this study was to identify economically sustainable organic coffee cultivation models and methods through examining input management and marketing behavior.

The production function was used to determine input-output relationships. Investment analysis suggested the feasibility of farming enterprises in coping with risks over the long term. Pricing behavior and marketing margin enables growers and processors to find appropriate price range which would increase farm’ s revenue and improve marketing policy. Investment analysis and resource use assessment were new works for developing production planning policies for farmers, governments, and novice entrepreneurs. This study explored economically profitable locations and target farmer groups so that further production and productivity of organic coffee can be augmented in the mid-hill region. This may help in reducing rural poverty and provide opportunities in attracting foreign currency.

Research was carried out by interviewing 280 and 120 farmers from Gulmi and Palpa districts, respectively. Similarly, 20 retailers and 10 wholesalers were interviewed in 5 different representative economic markets in Nepal. The Cob-Douglass production function and marginal value products/marginal input cost approach were applied to estimate the production function and resource use of these farms, respectively. The data envelopment analysis technique was used for determining technical efficiency and farm-level inefficiency factors through Tobit regression.

Both organic and conventional farming were found economically viable, but organic farming is superior in terms of export potential, social corporate responsibility, and environmental sustainability. Benefit-cost ratio of 2.12(at 12% opportunity cost of capital),

学位論文の要旨

【論文の要旨】（和文の場合1,200字程度、英文の場合８００語程度）

a positive net present value and a three times greater internal rate of return were found in organic coffee farming. The sensitivity analysis assuming a 10% cost increase with a 40% decrease in output price indicated sound economic return for farmers.

Production functions for all farm sizes and altitude categories were significant. Labor and organic fertilizers were the major factors and statistically significant in explaining coffee production. Increasing return to scale was observed in all categories. The labor used in all categories was over-utilized while remaining inputs were under-utilized. About 46% of low, 43% of medium, and 39% of high altitude farms were technically efficient. More than 50% of the coffee farms were inefficient. They were unable in cost-effective allocation of labors and organic fertilizers. They were lacked with primary processing equipments. About 43% of small, 50% of medium, and 56% of large coffee farms were technically efficient. Small farmers dominated the production system. Small and high altitude farms were more efficient; thus policy should focus on merging small farms to improve input productivity. The regression analysis showed that over the past years the farm gate price has been significant for explaining the current farm gate price. The producers' share on the export value was 50%. Reducing marketing middleman by establishing a direct relationship between farmers and the processing industry can increase marketing efficiency and farm revenue. Only a two-step marketing channel can ensure a better farm gate price. From this research, it was found that organic coffee can be grown without decreasing yield. This will empower farmers in extending their farm size and the government to formulate organic promotion and support policies.

Based on financial analysis, more farms can be established in the unproductive high altitudes. Efforts to increase labor and fertilizer productivity are important to improve competitiveness in organic coffee production and prices. Quality improvement through upgrading technology is important in processing coffee after harvest. The use of a marketing information system may be useful in increasing sales in domestic and export markets.

This study showed that the major problems in coffee production were the shortage of skilled labor, inadequate technical knowledge, and poor farm investment. The overall effort in reducing these problems should be initiated from the government through strong linkage of financial institutions, research groups, and coffee producers.

（注１）　論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
（注２）　フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
（注３）　学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
（注４）　和文又は英文とする。

別紙様式7

平成２３年　7月　２０日

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

専　攻 入学年度	資源環境科学　専攻 平成２０年度（１０月）入学	氏　名	Krishna Lal Poudel （キリスナ　ラル　ポウデル）
論文題目	Economic Analysis of Organic Coffee Production in Rural Hill Region of Nepal ネパール山間地域における有機コーヒーの経済分析		

審査委員職・氏名		
	主　査	教 授　山本　直之
	副　査	教 授　杉本　安寛
	副　査	教 授　西脇　亜也
	副　査	教 授　甲斐　重貴
	副　査	准教授　宇田津　徹朗

審 査 結 果 の 要 旨（８００字以内）

ネパールの山間地域では、以前より農家の貧困が指摘されているなか、有機コーヒーは一般に収益性が高く、その導入により経営改善が期待されている。ただし、農地の分散性や必要な投資の遅れもあり、有機コーヒーは十分に普及していない。以上の認識のもと本論文は、いかにして現在の生産要素を有効活用し、高い収益性を実現するかについて分析するとともに、ネパールにおける有機コーヒーの流通・販売戦略について明らかにするため、ネパール山間地域を対象に、計量経済分析の手法を用いて実証的かつ定量的に研究を行ったものである。具体的には、計 400 戸の農家並びに 30 戸の業者のデータを用い、生産関数やＤＥＡ法（Data Envelopment Analysis）等により分析した。

生産関数の計測により、小規模経営に比べて、むしろ大規模な経営において労働力（主として雇用労働力）の投入が効率的ではない実情が確認されるとともに、ＤＥＡ法による分析から、例えば大規模農家の 44%は経営上の無駄を有しており、労働力、堆肥の有効利用や技術習得のための教育、経験を行うことにより、さらに収益性を向上させる可能性があることを、地域別（標高の高低別）・農家の規模別に定量的に示した。また、回帰分析の結果から、コーヒー豆の色・形のほか、前年の販売価格が当年の価格決定に大きく影響していること、農業者と小売御者等を結ぶ流通チャネルの確立がマーケティングに重要となっていることを明らかにした。そして、有機コーヒー振興のためにとるべき施策として、技術指導のほか財務分析や金融面での支援等が必要となることを実証的に明らかにした。

以上、本研究で得られた知見は、ネパール山間地域における有機コーヒーの収益性を向上させる上で、また併せて今後のネパール農村の振興を図る上で重要な成果であると判断されるので、本論文は博士（農学）の学位として十分な価値があるものと判定した。

（注）論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

氏　　名	田畑　宏
本　　籍	奈良県
学位記番号	農工総博甲第 32 号
学位の種類	博士（工学）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	生物機能応用科学専攻
教育コース	生命機能科学

学位論文題目

Studies on the Effects of Alkaline and/or Photo-catalytic Pretreatments on the Enzymatic Saccharification of Ligneous Kudzu (Pueraria lobata) Stalks and Herbaceous Napiergrass (Pennisetum purpureum Schumach)（木質系クズ茎部および草本系ネピアグラスの酵素糖化へのアルカリ前処理及びアルカリ/光触媒前処理効果に関する研究）

学位論文審査委員

主査	教　授	林　幸男
副査	教　授	保田昌秀
副査	教　授	横井春比古
副査	准教授	湯井敏文
副査	准教授	白上　努

主指導教官

教　授　林　幸男

別紙様式３

学位論文の要旨

フリガナ 氏　名	タバタ　ヒロシ 田畑　宏
専　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 生物機能応用科学専攻 平成　２０　年度（４月）入学
学位論文 題　目	Studies on the Effects of Alkaline and/or Photo-catalytic Pretreatments on the Enzymatic Saccharification of Ligneous Kudzu (*Pueraria lobata*) Stalks and Herbaceous Napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach)(木質系クズ茎部および草本系ネピアグラスの酵素糖化へのアルカリ前処理及びアルカリ/光触媒前処理効果に関する研究)

【論文の要旨】

持続できる社会の構築を目指し、再生可能資源であるバイオマスの有効利用即ち、リグニンを含むバイオマスからの有用化学物質あるいは燃料への転換に大きな関心が寄せられている。リグノセルロースの酵素糖化の前処理としてアルカリ溶液を利用する方式についてはこれまでに多くの研究がなされてきたが、糖化率の向上を目指しさらなる改善が求められている。本研究では成長が速くバイオマス資源として有望な草本系バイオマスであるネピアグラスの葉部と、同じく繁殖性の高い木質系クズ茎部に分解酵素　(*Acremonium cellulolyticum*)を用い、含有するセルロース、ヘミセルロースから糖を得る酵素糖化方式において、得られた糖収率の更なる向上を目指し、バイオマスの酵素糖化前処理としてアルカリ処理およびアルカリ処理＋シリコン（Si）共存下での可視光照射の糖収率に及ぼす効果について研究を行った。

アルカリ処理単独では酵素糖化阻害物質であるリグニンの一部可溶化と共にヘミセルロースも部分的に可溶化し、ネピアグラスから得られる還元糖収率は酵素糖化 24 時間後 60.3%で頭打ちとなった。アルカリ処理残渣に Si 共存下、Xe ランプを用い可視光照射 3 時間を付け加えると酵素糖化 24 時間後の還元糖収率が 86.7%に改善されることを見出した。リグニン含量の多い木質系クズ茎部でも還元糖収率はアルカリ前処理単独57.4%から可視光照射２時間を付け加えることで 88.6%に改善された。更に 72 時間酵素糖化を続けるとほぼ 100%の糖収率を得た。草本系ネピアグラスの場合、アルカリ前処理による還元糖増分はセルロース由来のグルコースの寄与が大きく、可視光照射処理による還元糖増分はヘミセルロース由来のキシロースの寄与が大きい結果を得た。アルカリ溶液中ではバイオマス中に含まれる化学結合の内、アリールエーテル結合は切断されやすいが、ジアリールエーテルあるいは共有結合性の高い、リグニンとヘミセルロースのエーテル結合は切れにくいとされている。我々は可視光照射により、このエーテル結合の解離が促進され、照射後キシロースが増えたと考察した。一方、木質系クズ茎部では可視光照射後、グルコースが増え、バイオマス種による化学結合の違いが示唆された。

(注１)　論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
(注２)　フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
(注３)　学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
(注４)　和文又は英文とする。

別紙様式７

平成23年7月25日

論文審査結果の要旨

専　攻	生物機能応用科学専攻	氏　名	田　畑　　宏
論文題目	Studies on the Effects of Alkaline and/or Photo-catalytic Pretreatments on the Enzymatic Saccharification of Ligneous Kudzu (*Pueraria lobata*) Stalks and Herbaceous Napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach) (木質系クズ茎部および草本系ネピアグラスの酵素糖化へのアルカリ前処理及びアルカリ/光触媒前処理効果に関する研究)		

審査委員職・氏名			
	主　査	教　授	林　幸男
	副　査	教　授	保田　昌秀
	副　査	教　授	横井　春比古
	副　査	准教授	湯井　敏文
	副　査	准教授	白上　努

審査結果の要旨（800字以内）

再生可能資源であるバイオマスの有効利用即ち、重要な課題として食糧と競合しないリグノセルロースからの有用化学物質あるいは燃料への転換に大きな関心が寄せられているが、酵素処理による糖化率の向上が求められている。本論文は、繁殖性の高い草本系ネピアグラス葉部や木質系クズ茎部の前処理としてのアルカリ処理とシリコン(Si)存在下での可視光照射が糖収率に及ぼす効果についてまとめたものである。

第１章では、リグノセルロースの特徴やセルラーゼなどによる酵素糖化の課題と展望について述べた。第２章では、ネピアグラス葉部の酵素糖化のアルカリ前処理について検討した結果、１%NaOH 処理で糖収率が 60.3%であることを明らかにした。第3章では、アルカリ処理および光触媒 Si の糖収率に及ぼす影響について検討した結果、3時間の可視光照射と24時間の酵素糖化で糖収率が86.7%へ向上することを明らかにした。第４章では、クズ茎部について同様の検討を行った結果、糖収率が88.6%へ向上することを明らかにした。第5章と第6章では、本研究全般に亘る考察と結論をまとめた。

このように、バイオマスの酵素糖化において、アルカリ処理と光触媒 Si 処理の組み合わせが前処理として効果的であることを明らかにしたことは、再生可能資源の有効利用に極めて重要かつ有意義である。

以上の論文内容ならびに平成23年7月25日に行われた論文公聴会での発表内容や質疑に対する応答を考慮して、論文の審査および最終試験に合格したと判定する。

(注)　学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

氏　　名	桑原　塁
本　　籍	奈良県
学位記番号	農工総博甲第 33 号
学位の種類	博士（学術）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	生物機能応用科学専攻
教育コース	水域生物科学

学位論文題目

ウニ殻色素の抗酸化活性とその HPLC を用いた分離・定量法に関する研究

学位論文審査委員

主査	教　授	幡手英雄
副査	教　授	村田　壽
副査	准教授	吉田照豊
副査	准教授	林　雅弘
副査	准教授	雉子谷佳男

主指導教官

教　授　幡手英雄

別紙様式３

学位論文の要旨

フリガナ 氏　　名	クワハラ　ルイ 桑原　塁
専　　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 生物機能応用科学　専攻 平成　20　年度（　4　月）入学
学位論文 題　　目	ウニ殻色素の抗酸化活性と そのHPLCを用いた分離・定量法に関する研究

【論文の要旨】（和文の場合1,200字程度、英文の場合８００語程度）

ウニの生殖巣は日本の伝統的な料理である寿司などの高級食材として知られるが、生殖巣の採取後に残るウニ殻は食品廃棄物として処理されている。一方、ウニ殻には数個のフェノール性水酸基を持つナフトキノン色素が含まれており、その色素成分は茶葉カテキンなどのポリフェノールと同様に、水素供与体として機能できる抗酸化性物質と考えられる。そこで本研究ではその実体解明や利用可能性について研究した。

まず、食用ウニ種であるアカウニ、バフンウニなどに比べて大量の色素成分を含むことが報告されているムラサキウニの廃棄殻を実験材料としてウニ殻色素を抽出し、その活性酸素捕捉能を検討した。その結果、ウニ殻色素は、抗酸化剤としてよく知られるα-トコフェロールと同等あるいはそれ以上の DPPH ラジカル捕捉活性を示し、スーパーオキシドアニオンラジカルおよび過酸化水素に対しても強い消去作用が認められた。一方、最も反応性の高い活性酸素の一種であるヒドロキシルラジカルの捕捉作用は観察されなかったが、その生体内での前駆物質となる過酸化水素やスーパーオキシドアニオンラジカルに対してウニ殻色素は強い捕捉活性をもっており、これらが捕捉されることで、結果的に反応性の高いヒドロキシルラジカルの発生も抑制されるものと推察された。これらのことは廃棄ウニ殻が天然抗酸化剤の供給源として有望であることを明らかにした。

次に、ウニ殻を天然抗酸化剤の供給源として利用するうえで不可欠なウニ殻色素成分の迅速な分離・定量法を、ダイオードアレイ（DA）検出器の装備されたC18 逆相系 HPLC および LC/MS 法で検討した。その結果、ギ酸：水：メタノール：アセトニトリルの混合溶離液により 30 分間程度でムラサキウニ殻色素は 4 つの主要なピークに分離できることがわかった。また DA 検出器で得られた各ピークの特徴的な UV-Vis 吸収スペクトルから主成分がスピノクローム A、B、C およびエキノクローム A であることが推定された。このことを確認するために、ネガティブイオン化モードの ESI 法で各色素成分を LC/MS 分析した。その結果、推定化合物の擬分子イオン$[M-H]^-$ に該当する明瞭な基準ピークが m/z 221.1、279.1、265.1 および 263.1 にそれぞれ出現した。さらに、ウニ殻色素の HPLC 注入量と分離ピークの面積との間に高い相関関係（$r^2 > 0.98$）が認められ、しかも各色素の検出限界が 0.1 μg の高感度な定量法であることが明らかになった。

以上のように、本研究ではウニ殻に各種活性酸素に対して強い捕捉作用を持つ色素成分があることを明確に示し、併せてウニ殻色素の HPLC 法による迅速な定量法も確立した。

(注１)　論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
(注２)　フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
(注３)　学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
(注４)　和文又は英文とする。

別紙様式7

平成２３年　7月２２日

論文審査結果の要旨

専　攻 入学年度	生物機能応用科学　専 攻 平成　２０年度（　4月）入学	氏 名	桑原　塁
論文題目	ウニ殻色素の抗酸化活性とそのHPLCを用いた分離・定量法に関する研究		

審査委員職・氏名		
	主 査	教授　幡手　英雄
	副 査	教授　村田　壽
	副 査	准教授　吉田　照豊
	副 査	准教授　林　雅弘
	副 査	准教授　雉子谷　佳男

審査結果の要旨（８００字以内）

ウニの生殖巣は高級食材として知られるが、生殖巣の採取後に残るウニ殻は食品廃棄物として処理されている。一方、ウニ殻には数個のフェノール性水酸基を持つナフトキノン色素が含まれており、その色素成分は茶葉カテキンなどのポリフェノールと同様に、水素供与体として機能できる抗酸化性物質と推察された。そこで、本論文ではまず、食用ウニ種であり、大量の色素成分を含むムラサキウニの廃棄殻を実験材料としてウニ殻色素を抽出して各種活性酸素などに対する捕捉活性を検討した。

その結果、ウニ殻色素は、抗酸化剤としてよく知られるα-トコフェロールと同等あるいはそれ以上の DPPH ラジカル捕捉活性を示し、その他の活性酸素種に対しても強い捕捉能が認められた。これらの実験結果から廃棄ウニ殻が天然抗酸化剤の供給源として有望であることが明らかになった。

次に、ウニ殻を天然抗酸化剤の供給源として利用するうえで不可欠なウニ殻色素成分の迅速な分離・定量法を、ダイオードアレイ（DA）検出器の装備された C18 逆相系 HPLC および LC/MS 法で検討した。その結果、30 分間以内でムラサキウニ殻色素は 4 つの主要なピークに分離できることがわかった。また DA 検出器で得られた各ピークの特徴的な UV-Vis 吸収スペクトルおよび、LC/MS 分析で観察された擬分子イオンピークから主成分はスピノクローム A、B、C およびエキノクローム A であることが明示された。さらに、ウニ殻色素の HPLC 注入量と分離ピークの面積との間に高い相関関係のある高感度な HPLC 定量法であることも明らかになった。

以上のように、本研究では食品廃棄物あるいは未利用のバイオマスであるウニ殻に優れた抗酸化性色素成分のあることを明らかにするとともに、同色素の HPLC 法による迅速な定量法を確立しており、本論文は博士論文として充分に価値あるものと判断した。

（注）論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。

氏　　名	松本 朋子
本　　籍	宮崎県
学位記番号	農工総博甲第 34 号
学位の種類	博士（工学）
学位授与年月日	H23.9.20
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科	農学工学総合研究科
専　攻	物質・情報工学専攻
教育コース	新材料ｴﾈﾙｷﾞｰ工学

学位論文題目

共焦点レーザー顕微鏡を活用した微小領域分光分析法の開発と応用

学位論文審査委員

主査	教　授	保田昌秀
副査	教　授	横井春比古
副査	准教授	白上　努
副査	教　授	窪寺昌一
副査	教　授	酒井　剛

主指導教官

教　授　保田昌秀

別紙様式3

学位論文の要旨

フリガナ 氏　　名	マツモト　トモコ 松　本　　朋　子
専　　攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 物質・情報工学専攻 平成22年度（4月）入学
学位論文 題　　目	共焦点レーザー顕微鏡を活用した微小領域分光分析法の開発と応用

【論文の要旨】（和文の場合1,200字程度、英文の場合800語程度）

数から数百ミクロンの微小材料は、環境調和材料やエレクトロニクス材料の開発の観点から注目され、微小材料中の成分の定量分析技術の開発が重要となっている。その分析は、破砕物のFT-IR 、反射分光、および蛍光分析が一般的であるが、定量分析法は少ない。

そこで、本論文では、微小領域の蛍光観察、吸収および蛍光スペクトル測定が行え、深さ方向の分解能が高い共焦点走査型レーザー走査型顕微鏡（CLSM）を用いた光透過性の微小材料の定量分析法の開発と応用を目的とした。

第1章では、微小領域分析の意義および研究内容の概要について述べた。

第2章では、CLSM を用いた顕微吸光度分析の精度を検証するために，球状シリカゲルにアンチモンポルフィリン錯体を吸着させて調製したマイクロビーズを、付属の透過照明装置を利用して吸光度分析を行った．その結果、本分析法は，ミクロンオーダーの微小材料中の成分濃度を定量するために有効な方法であることを明らかにした．

第3章では、色素の生体親和性の評価方法を開発するために，水溶性アンチモンポルフィリン錯体をモデル発色団に，酵母をモデル細胞として用いて吸着実験を行った．酵母に吸着した錯体濃度を CLSM 吸光度分析によって定量を行い、生体親和性の評価方法として活用できることを確認した．

第4章では、第3章と同様の方法で、水溶性リンポルフィリン錯体の酵母に対する生体親和性を評価した。錯体の軸配位子へのエンレンオキシ基の導入が水溶性および生体親和性の向上に効果的であることが分かった。最高の吸着量を示す錯体では10 μMの水溶液からその17100倍の濃度の錯体が酵母に吸着していることを明らかにした。

第5章では、シリカゲルの吸湿能力を色で識別するための湿度検出剤の調製を行い、CLSM による評価を行った。ポルフィリン、塩化マグネシウムおよびシリカゲルから調製した湿度検出剤は、乾燥条件下でプロトンを放出してプロトン化ポルフィリンに起因する緑色を、湿潤条件では中性に戻ることでピンクーオレンジ色に変色した。塩化マグネシウム量およびポルフィリン環上の置換基の最適化によって、湿度30%以下で変色する高感度湿度検出剤の調製に成功した。

第6章では、アンチモン型、フリーベース型、および亜鉛型のポルフィリン発色団を、それぞれシリカゲルに固定化した三種類のシリカゲルビーズを調製し、CLSM 吸光度分析によっての固定化収率を求めた。さらに、アンチモン型ビーズをマイクロチャネル反応器（MCR）に充填して、ジエチルアミンとの光化学反応を CLSM のレーザー光を用いて行った結果、中心金属のメタル交換反応に成功し、マイクロ領域で化学変換に成功した。

このように、本論文で開発した CLSM 吸光度分析法は、光透過性材料の微小領域分析に広く適応することができ、材料分野、生物化学分野への展開が期待できる。

（注1）　論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。
（注2）　フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。
（注3）　学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。
（注4）　和文又は英文とする。

別紙様式7

平成23年7月7日

論文審査結果の要旨

専攻	物質・情報工学専攻	氏名	松本朋子
論文題目	共焦点レーザー顕微鏡を活用した微小領域分光分析法の開発と応用		

審査委員 職・氏名			
	主査	教授	保田 昌秀
	副査	教授	横井春比古
	副査	教授	窪寺 昌一
	副査	教授	酒井 剛
	副査	准教授	白上 努

審査結果の要旨（800字以内）

新規機能性材料の開発と関連して、数から数百ミクロンの微小材料の定量分析技術の開発が重要となっている。今までの微小固体材料の定量分析については、その破砕物の赤外分光および蛍光分析等による解析が一般的であり、単一粒子を非破壊で分析する方法は少ない。そこで、本学位論文では、共焦点レーザー走査型顕微鏡（CLSM）を微小領域での定量分析へ応用することに着目し、光透過性材料であるシリカゲルおよび酵母菌体を試料に選定して、微小領域吸光度分析の開発とその応用について検討を行なっている。

第1章ではCLSMの特徴および研究目的について述べた。第2章ではCLSMを用いた吸光光度分析の精度と応用範囲についてモデルビーズを用いて検討した結果、0.86から2.14ミクロンの測定範囲において高精度で吸光光度分析を行えることを確認した。第3および4章では、CLSMを用いる吸光光度分析の応用として、水溶性アンチモンおよびリンポルフィリン色素の生体親和性について解析を行った。その結果、酵母菌体内に吸着した色素濃度を生菌状態で測定することに成功し、本法が色素の生体親和性の評価方法として活用できることが示された。第5章では湿度指示剤の色調変化分析にCLSMを用いた。ポルフィリンを発色団として開発したコバルトフリー型湿度指示剤は、市販品と同等の相対湿度30%で色調変化を起こし、極大吸収波長が130 nm以上シフトする顕著な色調変化を達成している。第6章ではシリカゲルに固定化されたアンチモンポルフィリン発色団の微小領域での光反応にCLSMを活用した。光反応による中心金属の脱離と亜鉛への交換反応に成功し、微小領域での触媒改質の方法などを提示した。

これらの研究は、可視光透過性材料の微小領域分析に広く適応することができ、材料分野、生物化学分野の発展に寄与する研究である。公聴会での発表内容や質疑に対する応答も適切であり、本審査委員会は、論文の審査および最終試験に合格したと判定する。

(注) 学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。