

## 学位論文審査結果の要旨

|   |  |
|---|--|
| 学位申請者<br>氏 名  | フ ッ テ イ カ - ニ ロ シ ハ ナ ム マ リ ア ラ ラ チ グ<br>Buddhika Niroshie Perumpuli Arachchige  |
| 審査委員  | 主査 琉球 大学 教授 外山 博英  |
|   | 副査 琉球 大学 准教授 橋 信二郎   |
|   | 副査 鹿児島大学 教授 玉置 尚徳  |
|   | 副査 佐賀 大学 教授 光富 勝   |
|   | 副査 琉球 大学 准教授 平良東紀  |
| 審査協力者   | 印  |
| 題 目   | Studies on Thermotolerant Acetic Acid Bacteria from Sri Lanka:<br>Taxonomic Characterization and Analyses of Membrane-bound<br>Enzyme Activities and Pellicle Polysaccharides<br>(スリランカからの耐熱性酢酸菌に関する研究：分類学的特徴及び<br>膜結合型酵素活性と菌膜多糖の解析) |
| <p>酢酸菌はグラム陰性の絶対好気性菌で、エタノールを酢酸へと酸化する能力を持つ。酢酸菌のうち、<i>Acetobacter</i> と <i>Gluconacetobacter</i> が工業的酢酸生産に使用されている。またビタミンCの工業的合成過程で <i>Gluconobacter</i> が使用されている。酢酸生産過程は発熱を伴うので温度上昇は避けられない。温度が上昇しすぎると酢酸生産能力が損なわれるので、最適な温度になるように冷却装置で冷却しなければならず、特に熱帯や亜熱帯での酢酸生産のコストを上昇させている一因となっている。高い温度でも酢酸生産能力が損なわれない耐熱性酢酸菌を開発することは有益であると考えられる。この学位論文では、まず熱帯のスリランカのココナツ酢から耐熱性酢酸菌を単離し、その生化学的及び生理学的特徴付けを行い、細胞膜結合型酵素の耐熱性を調べ、更にそれぞれの菌株の菌膜から多糖を精製し、その解析を行った。</p> <p>スリランカの食酢生産工場でココナツ酢発酵槽の上層に形成された菌膜を入手し、そこから42℃で生育する <i>Acetobacter pasteurianus</i> 酢酸菌3株 (SL13E-2, SL13E-3, SL13E-4) と37℃で生育する <i>Gluconobacter frateurii</i> 酢酸菌4株 (SL13-5, SL13-6, SL13-7とSL13-8</p> |  |

)を単離し同定した。単離した *Acetobacter pasteurianus* 酢酸菌3株は、37℃で6%エタノールから4%酢酸を、40℃では4%エタノールから2.5%酢酸を生産することができた。SL13E-4株は他の2株に比べ酢酸生産速度が遅かった。以前の研究でタイから単離されている耐熱性の *Acetobacter pasteurianus* SKU1108株と同様に、SL13E-2株とSL13E-4株のアルコール脱水素酵素及びアルデヒド脱水素酵素活性は、常温菌の酵素に比べ熱に対して安定であった。単離した *Acetobacter pasteurianus* 酢酸菌を使って、高い温度でのココナツ水からのココナツ酢の発酵生産が可能であった。

*Acetobacter* 酢酸菌は菌膜を形成して、培地の表層に浮かんだ状態で生育する能力を持つことが知られている。菌膜は、菌体が生産し細胞に結合したままの多糖のマトリックスと菌から形成されている。スリランカのココナツ酢から分離された *Acetobacter pasteurianus* の3株 (SL13E-2, SL13E-3, SL13E-4) とタイから単離された耐熱性菌 SKU1108株及び中温菌 NBR C3191株の菌膜からそれぞれ多糖を精製し、菌膜形成多糖の特徴付けを行った。菌膜多糖の構成単糖の組成は同じ *Acetobacter pasteurianus* であっても菌株ごとで異なっていた。SL13E-2株の菌膜多糖は、ラムノースとグルコースのみから成る多糖で、ラムノース：グルコース=1：8であった。SL13E-4株とNBRC3191株では、ラムノースとグルコースとキシロースを成分として、組成比はそれぞれ2：2：1及び1：5：2.5であった。SL13E-3株とSKU1108株はラムノースとグルコースとガラクトースを含み、組成比はそれぞれ2：2：1及び1：5：2.5であった。SL13E-2, SL13E-3, SL13E-4の3株の菌膜形成は培地にエタノールを添加することで増加したが、SKU1108株ではあまり増加しなかった。エタノールで誘導された菌体から精製された多糖の分子サイズと構成単糖の組成は、エタノールを加えなかった菌体からの多糖と違いがなく、このことはエタノールによる誘導で多糖の分子数が増えたのであって、別の多糖が生産されたのではなく、それぞれの多糖の分子の大きさや組成にも変化がなかったことを示している。一方、グルコースやスクロースやフルクトースの様な糖源を加えると、SKU1108株では菌膜形成が促進され、40℃で特に顕著であった。他の株ではそのような糖源での誘導は起こらなかった。

本学位論文は、スリランカのココナツ酢の醸造に関与する酢酸菌について、初めて単離しその性質について記述したものである。更にその耐熱性についても解析し、同じ種類の菌株でも生産する多糖が異なっていることを初めて報告するものである。よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値を十分に満たしていると判断された。