

氏名	あずま 東	けい 敬	こ 子
学位(専攻分野)	博士 (農学)		
学位記番号	論農博第1791号		
学位授与の日付	平成4年11月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	Studies on Characterization and Growth Control of Sugar-tolerant Yeasts (耐糖性酵母の特性解明及び生育制御に関する研究)		
論文調査委員	(主査) 教授 熊谷英彦	教授 小清水弘一	教授 鬼頭 誠

論文内容の要旨

本論文は、半生菓子、ジャム、乾燥果実などの中間水分食品に生育する耐糖性酵母の分離同定、耐糖性の機構の生化学的解明、これら酵母の生育抑制法の開発を目的として行われたものであり、その内容は以下のように要約される。

論文は4章からなり、第I章においては菓子類、乾燥果実、蜂蜜、糖蜜などの糖濃度の高い食品試料から321菌株の耐糖性酵母を分離し、特性の異なる100株について同定を行い、これら耐糖性酵母が14属40菌株にわたり幅広く存在することを明らかにしている。分離株の内、*Candida*属の5株は4新種に属すること、蘭の花蜜から分離したクリプトコッカス科の1菌株は新属新種であることを明らかにしている。さらにこの新属新種株を *Symphodiomyopsis paphiopedili* と命名し、発表している。

第II章においては、分離同定した耐糖性酵母の生育最低水分活性を測定し、一般の酵母が約0.90であるのに対し0.80付近の値を示すものが多いことを明らかにした。またとくに0.67という低い値を示す耐糖性酵母の存在を明らかにした。

第III章においては、前半の部分で耐糖性酵母の生化学的特性を解明する目的で種々の細胞内糖アルコールの量的変化を経時的に追跡し、高糖濃度下ではほとんどの菌種で培養初期にグリセロールが急激に増加し、その後グリセロールが減少するにつれてアラビトールが増加する共通の耐浸透圧調節機構が存在することを見出した。さらに、エリスリトールを浸透圧調節物質として生成する菌株から、エリスリトール生成の key enzyme であるエリスロースレダクターゼを単一に精製し、本酵素が分子量や等電点によって分けられる三種の酵素からなることを明らかにしている。さらにこれらの酵素の性質を解明し、その浸透圧調節への関与を示唆している。第III章の後半では、原形質膜の脂質組成、流動性、原形質膜におけるエネルギー代謝等の特性を検討している。その結果、耐糖性の低い酵母では高糖濃度条件下で H^+ -ATPase 活性がかなり低下したのに対し、耐糖性の高い菌種ではそのような低下が見られないことを明らかにし、この酵素の活性と耐糖性との関係を示唆するに至っている。

以上のような耐糖性酵母の特性解明の研究から、耐糖性酵母は一般的に糖アルコールにより浸透圧調節

を行っているが、分類学的に多様性に富んでおり、原形質膜の特性にも差があることが明らかになり、その耐糖性も特定のメカニズムで発現するものではないとの結論を得ている。したがって、単純な方法で耐糖性を発現させないようにすることによって耐糖性酵母の生育を制御することは困難であり、生育制御のためには種々の制菌・抗菌技術の開発とそれによる効果の改善が重要であると推論している。

第IV章においては、以上のような推論に基づき、耐糖性酵母の生育制御に有効な方法を検討し、提示している。まず耐糖性酵母に対する界面活性剤の生育抑制効果を検討し、しょ糖脂肪酸エステルのうち、親水性の大きなものは生育抑制効果が高く、高糖濃度の食品における酵母の生育制御法のひとつとして利用できることを示した。ついで環境ガス組成の効果を検討し、一部の菌種において生育最低水分活性付近で、低酸素濃度すなわち酸素吸収剤の生育抑制効果を認めた。さらにエタノール蒸気と低酸素濃度併用の効果を検討し、水分活性により差があるもののいずれの菌株においても併用効果を認め、特に耐糖性の高い *Zygosaccharomyces rouxii* において顕著な生育制御効果を認めている。また天然抗菌性物質であるアリルイソチオシアネートが、*Z. rouxii* に対する高い抑制効果をもつことを見出し、本物質が優れた品質保持剤であることを示している。銀イオン徐放性銀置換ゼオライトの効果についても検討し、置換率の高い銀ゼオライトほど最小生育阻止濃度が低く、同時に培地中の銀イオン濃度もより低い値で生育が抑えられることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

近年、食品の保存性を向上させる目的でガス置換包装や酸素吸収剤封入包装、エタノール添加等の技術が開発され、広く実用化されている。包装・貯蔵環境内の酸素を除去する手法は糸状菌には効果的であるが、嫌気的条件下においても生育が可能な酵母に対しては効果が低く、酵母の増殖にともない二酸化炭素の発生による袋の膨張、発酵臭等の発生が起り、食品の品質が低下する。食品の風味や安全性が重要視される昨今、加熱殺菌や合成保存料添加によらない酵母の生育制御技術の開発が、主に中間水分食品を対象として非常に重要な研究課題となっている。すなわち中間水分食品の品質を保持するために、とくに問題となる耐糖性酵母の生理特性を究明するとともに、具体的な生育制御法を検討し、実用的な見地からその可能性を評価することが重要である。

本研究においては、耐糖性酵母を多くの中間水分食品から分離同定し、その耐糖性の機構を生化学的、細胞生理学的に研究し、ついで得られた結果に基づいて耐糖性酵母の実用的生育制御技術を提示している。成果として評価すべき点は次のとおりである。

- (1) 糖濃度の高い食品等を試料として321菌株の酵母を分離した。それらは14属40菌種に同定され、耐糖性酵母が分類学上かなり広い範囲に分布していることを明らかにした。また分離株の中に新属および新種を発見し、高糖濃度の試料は新しい微生物検索源としても価値のあるものであることを示した。
- (2) 耐糖性酵母の生育最低水分活性を測定し、一般の酵母よりかなり低い値を示すことを明らかにした。とくに *Z. rouxii* の中に0.67という低い値を示す菌株を見出した。
- (3) 耐糖性酵母は一般に代謝産物である糖アルコールによって浸透圧調節を行っていること、また、原形質膜の特性にはかなり差があることを明らかにした。

(4) エタノールと低酸素濃度の併用法は実際に食品に応用できる効果的な耐糖性酵母の生育制御技術であることを見出した。また、界面活性剤、アリルイソチオシアネート蒸気および銀イオンは品質保持のための複合技術の素材として有望であることを明らかにした。

以上のように本論文は、耐糖性酵母に新属新種を見出すと同時に、これら酵母の特性を解析し、その生育を制御する実用的方法を明らかにした。これらの成果は微生物分類学、微生物細胞生理学、食品保蔵加工学に寄与するところが大きい。

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、平成4年9月28日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。