The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	STUDY ON THE PRODUCTION OF EXOPOLYSACCHARIDE BY CITROBACTERSP. TKF04
Author(s)	顔, 慧君
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45808
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【4】

氏　　名	顔（ヒア）　慧（フイ）　君（チン）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学　位　記　番　号	第　１９０８４　号
学位授与年月日	平成 16 年 12 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 工学研究科環境工学専攻
学　位　論　文　名	STUDY ON THE PRODUCTION OF EXOPOLYSACCHARIDE BY *CITROBACTER* SP. TKF04 （*Citrobacter* sp. TKF04 による細胞外多糖の生産に関する研究）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　藤田　正憲 （副査） 生物工学国際交流センター教授　関　　達治　　助教授　池　　道彦

論　文　内　容　の　要　旨

本論文は、廃水処理をはじめ各種工業プロセスにおいて汎用されている凝集剤の新規開発を目的に、*Citrobacter* sp. TKF04 が生産する、毒性がなく、環境にやさしいバイオポリマーBF04 に着目し、その分析手法の確立、生産に係る各種条件の影響と産物の特徴、回収および精製手法について検討した結果をまとめたもので、７章から構成されている。

第１章では、従来より用いられてきた有機性高分子凝集剤や無機性凝集剤が、発ガン性や神経毒性を有し人の健康に悪影響を及ぼすことを述べ、本研究ではその解決策の１つとして、*Citrobacter* sp. TKF04 によって生産される高分子化合物 BF04 を新規凝集剤として開発するために重要な、分析方法の確立と効率的生産を目的とすることを明示した。

第２章では、バイオポリマーに関する既往研究について、特にこれまで報告されているバイオポリマーの化学的特徴、生合成のメカニズムとそれに関与する遺伝子、生産の最適化のための各種培養条件についてまとめ、*Citrobacter* sp. TKF04 が生産する BF04 が新規のバイオポリマーであることを示した。

第３章では、本研究を通じて用いた実験材料と実験方法をまとめ、*Citrobacter* sp. TKF04 の培養から BF04 の生産、生産された BF04 の前処理と分析、回収と精製までの一連の流れを示した。

第４章では、BF04 中の全ヘキソサミン含量分析のための加水分解条件について Elson-Morgan 法に基づいて検討し、6M 塩酸で 115℃、１時間処理することで最適な結果が得られたことを示した。また、ホウ酸ナトリウムの添加によって、これまで区別が困難であった BF04 の構成モノマーのグルコサミンとガラクトサミンが区別できることを明らかにするとともに、その構成比の新しい計算式を示した。

第５章では、*Citrobacter* sp. TKF04 の培養条件が BF04 の生産とその性質に与える影響について検討し、植菌量、C/N 比、初期酢酸ナトリウム濃度、撹拌速度、Mn^{2+}、Zn^{2+}、培地の pH 値が BF04 生産量に大きな影響を与えることを明らかにした。また、これらの条件によってグルコサミンとガラクトサミンの構成比が 6.2 から 500 まで変化することを明らかにした。

第６章では、BF04 の回収、精製過程が BF04 の収率とその性質に与える影響について検討し、希水酸化ナトリウム水溶液処理により、93%のタンパク質を除去できること、その後透析を行うことで、99.75%の純度の BF04 を得

られることを示した。なお、FTIR スペクトル解析の結果、BF04 はキトサン様物質であることを明らかにした。

第７章では、以上の結果を要約した上で、*Citrobacter* sp. TKF04 が優れたバイオポリマー生産ポテンシャルを有すること、かつ適切な精製方法との組み合わせにより高純度のバイオポリマーが得られたことを指摘し、将来的に商業ベースでのバイオポリマー生産が可能であると結論した。

論文審査の結果の要旨

凝集剤は、現在の廃水処理や各種工業プロセスにおいて必要不可欠なものであるが、従来より用いられてきた有機性高分子凝集剤や無機性凝集剤は、生分解性、残留性あるいは生態毒性などの問題を有しており、長期、大量使用により人の健康や生態系に悪影響を及ぼす可能性が指摘されてきた。これに対して、生物の生産する凝集剤は一般に生分解性や毒性の点から環境にやさしい材料として実用化が期待されているが、効率的かつ安定した生産を行っていくためには解決すべき問題が多々残されている。本論文は、*Citrobacter* sp. TKF04 によって生産される新規凝集剤であるバイオポリマーBF04 を安価かつ安定して生産するために必要なバイオポリマー組成の簡易な分析方法と効率的生産法の確立を目的として、分析条件の最適化、BF04 生産に及ぼす各種要因の影響、および、生産物の回収および精製手法について行った検討の結果をまとめたものであり、成果を要約すると以下のようになる。

(1)*Citrobacter* sp. TKF04 が生産する BF04 が主成分としてヘキソサミンを含有する新規のバイオポリマーであることを示すとともに、全ヘキソサミン含量分析のための加水分解条件を検討し、6M 塩酸で 115℃、１時間処理することで最適な結果が得られることを示している。また、ホウ酸ナトリウムの添加によって、これまで区別が困難であった BF04 の構成モノマーのグルコサミンとガラクトサミンが区別できることを明らかにし、BF04 の迅速な分析技術を確立している。

(2)*Citrobacter* sp. TKF04 の培養条件が BF04 の生産とその性質に与える影響について検討し、植菌量、C/N 比、初期酢酸ナトリウム濃度、撹拌速度、Mn^{2+}、Zn^{2+}、培地の pH 値が BF04 生産量に大きな影響を与えることを明らかにしている。また、これらの条件によってグルコサミンとガラクトサミンの構成比が 6.2 から 500 まで変化することを明らかにしている。

(3)BF04 の各種条件下での回収、精製過程が収率とその性質に与える影響について検討し、水酸化ナトリウム水溶液を用いた処理により、93%のタンパク質を除去できること、その後透析を行うことで、99.75%の純度の BF04 を得られることを示している。また、FTIR スペクトル解析の結果、BF04 はキトサン様物質であることを確認している。

以上のように、本論文は環境工学、特にグリーンプロダクト生産技術の発展に寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。