

中国産破砕品より得られた色素について HPLC を行ったところ、黄色色素をほとんど含まず、赤色色素はカルタミンのみであった。このことから、セルロースによる色素の精製工程を含む酵素処理法の方が、従来法に比べ、純度の高いベニバナ赤色素を製造することができると考えられた。副色素成分が検出されなかった原因としては、①副色素成分はもともと花卉中にカルタミンとともに存在する、②アルカリ抽出の過程で生成する、③反応後の精製過程で副色素が除去されるという 3 つの原因が考えられた。そこで、カルタミン含量の高い、試料 A2 を 1%炭酸ナトリウム溶液に溶解し、続いて 10%クエン酸を加えて得られた溶液および沈殿の HPLC を行ったところ、副色素成分は検出されなかった。また、副色素成分を含む試料 B を、酵素処理法で用いられる精製法により精製したところ、黄色素成分は除去されたものの、副色素成分は除去されなかった。従って、副色素成分はベニバナ花卉中に存在するものと考えられた。

#### 5. ベニバナ花卉からの色素成分の抽出

副色素成分が花卉中に存在するものか、否かを調べるために、入手した 4 種類のベニバナ花卉からの色素成分の抽出を試みた。メタノールによる抽出では、赤色素成分は抽出されなかったが、続いて 0.5%酢酸含有メタノールにより抽出を行うと、極微量のカルタミンが検出された。また、DMF により抽出した場合にも副色素成分は検出されなかった。そこで、従来法を参考に抽出を行った。すなわち、花卉を水洗後、炭酸ナトリウム水溶液により抽出し、続いてクエン酸水溶液による中和を行った。赤色沈殿を生じなかったため、得られた溶液について HPLC を行ったが、赤色素成分含量が低く、副色素成分は検出できなかった。次に、微結晶セルロースに色素成分を吸着させてから、DMF で抽出した結

果、中国産 2 種および埼玉産のベニバナからは副色素成分が検出されたが、山形産からは副色素成分の保持時間のピークは小さく、スペクトルによる確認ができなかった。以上の結果から、副色素成分は、原料植物由来と考えられた。

#### D. 結論

ベニバナの黄色素成分を酵素処理し、精製されたベニバナ赤色素には従来色素とは異なる色素成分は最終的に残らないと考えられ、新たな規格を設定する必要はないものと考えられた。植物からの抽出、中和により得られるものの方が他の成分を多く含有していた。

#### (参考文献)

- 1) H. Obara a, J. Onodera, Chem. Lett., 1979, 201.
- 2) Y. goda, J. Suzuki, T. Maitani, Jpn. J. Food Chem., 4, 54-58 (1997).
- 3) Y. Takahashi, Tetrahedron Lett., 25, 2471 (1984).
- 4) M. Nobakht, M.Fattahi, M. Hoormand, I. Milanian, N.Rahbar, M. Mahmoudian, J. Ethnopharmacology, 73, 453-459 (2000).
- 5) T. Kumazawa, S. Sato, D. Kanenari, A. Kunimatsu, R. Hirose, S. Matsuba, H. Obara, M. Szski, M. Sato, J. Onodera, Chem. Lett, 1994, 2343-2344.
- 6) K. Nakano, J. Chromatog, 438, 61-72 (1988).

#### E. 健康危機管理情報

なし

#### F. 研究発表

なし

#### G. 知的財産権出願・登録状況

なし

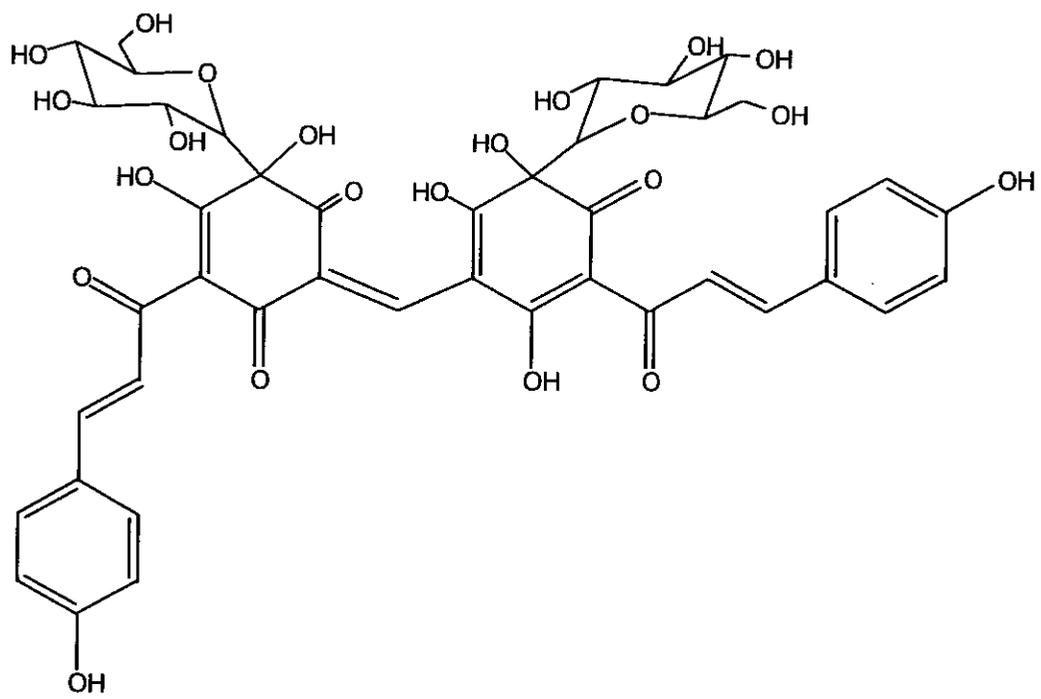


Fig. 1 Carthamin

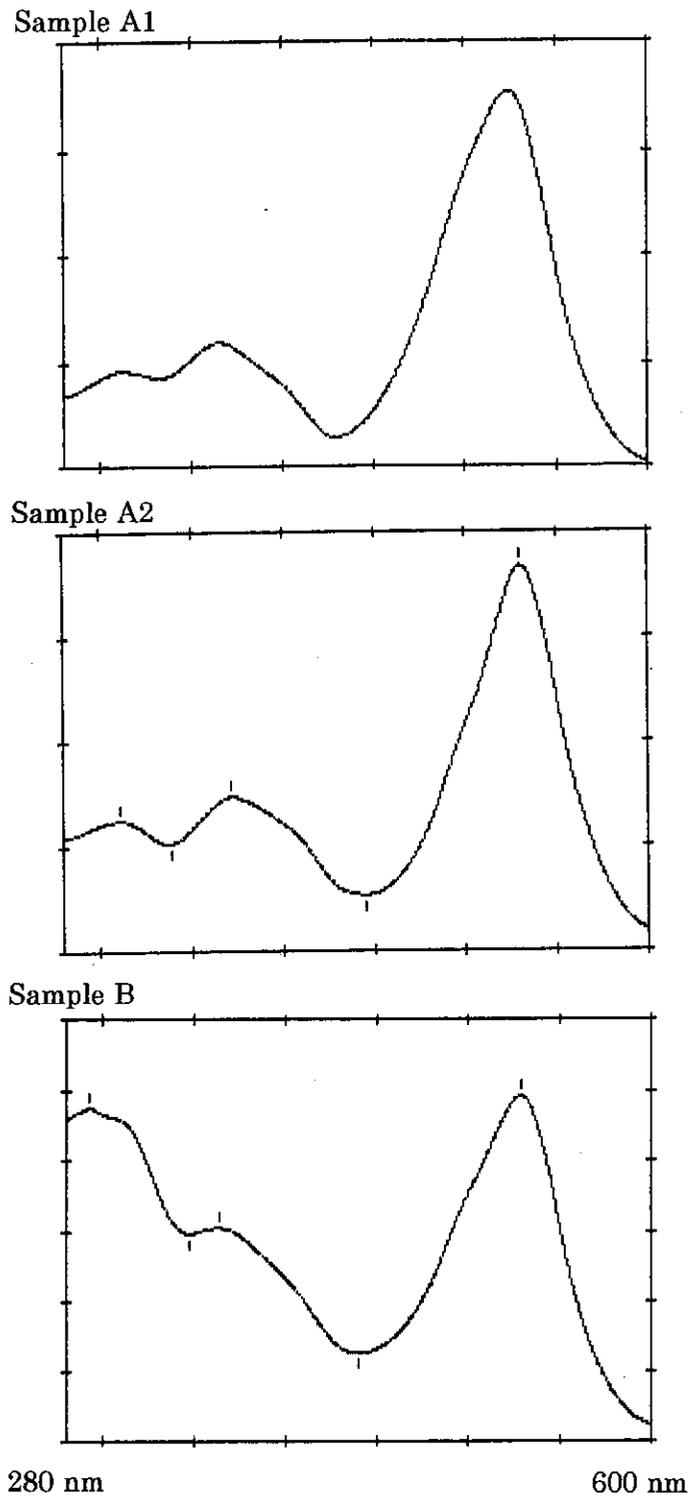


Fig. 2 Absorbance spectra of carthamus red



Fig. 3 Thin layer chromatographic analysis of carthamus red

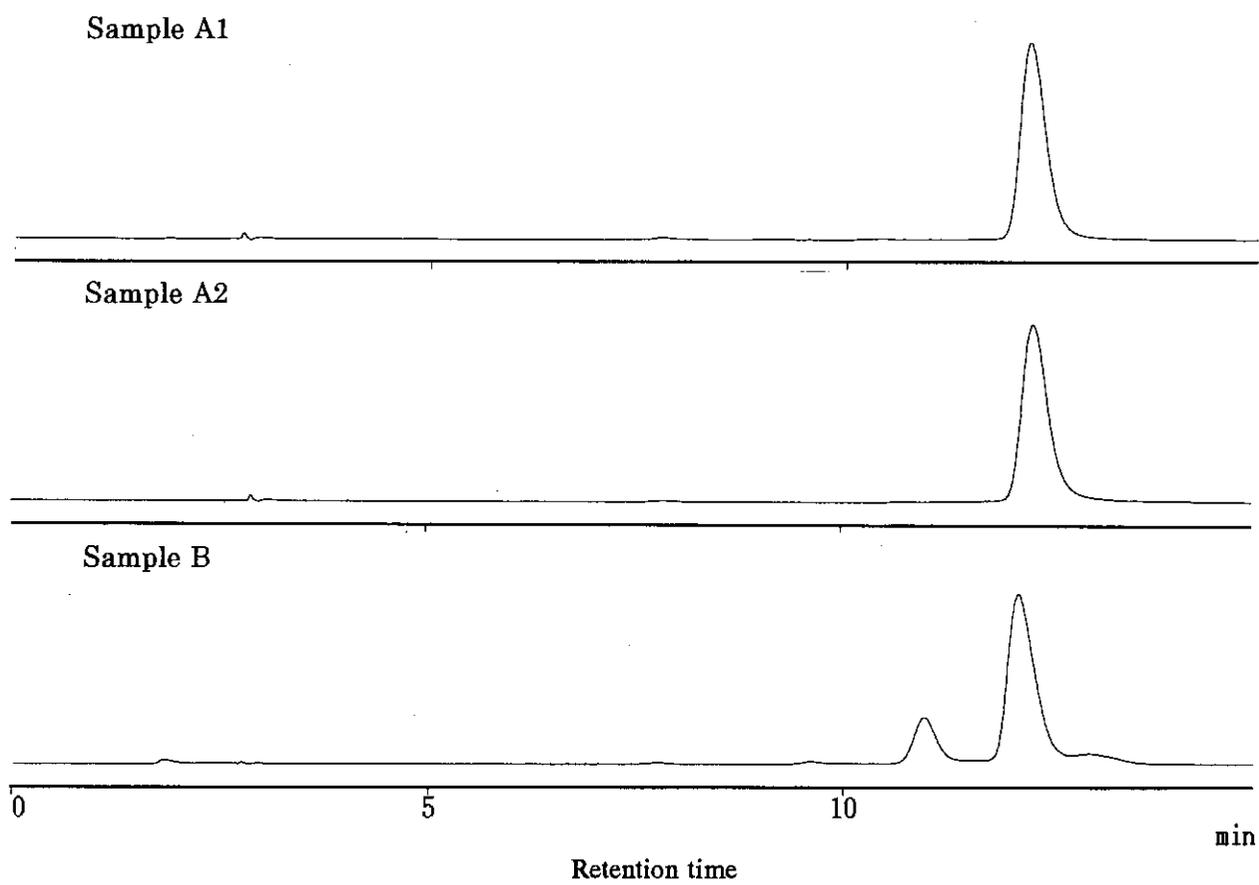


Fig. 4 HPLC chromatograms of carthamus red

平成12年度 厚生科学研究

食品添加物の規格基準等に関する  
基礎的調査研究

既存添加物の主要成分の構造に関する研究

第1部 ベニコウジ色素に関する研究

第2部 酵素法によるL-アスコルビン酸分析法の改良に関する研究

東亜大学

義平 邦利

## 目 次

第1部 ペニコウジ色素に関する研究	2
1. 研究目的	3
2. 研究方法	3
3. 研究結果と考察	3
4. 結論	3
5. 健康危機管理情報	3
6. 研究発表	3
7. 知的財産権の出願・登録状況	3
I. ペニコウジ菌文献	4
1. 物質生産	4
2. 製造	12
3. 菌体等のオンライン制御	17
4. 着色効果	18
2. 分析	20
1) Monascus 色素	20
(3)食品中からの色素の分析	22
2)長鎖脂肪酸	24
3)シトリニン	24
3. 生理活性	25
血压効果作用	27
4. 利用・効果	35
5. 需要動向	40
II. ペニコウジ菌文献 各論	44
1. Monascus anka	44
2. Monascus kaoliang	47
3. Monascus pilosus	47
4. Monascus purpureus	49
5. Monascus ruber	57
6. Monascus rubiginosus	62
第2部 酵素法によるL-アスコルビン酸分析法の改良に関する研究	64
I. 総論	65
研究要旨	65
研究目的	65
研究方法	65
1)測定機器	66
2)測定法の改良	66
3)デヒドロアスコルビン酸の還元	66
4)添加回収試験	66
5)ヒドラジン法と改良酵素法との比較	66

6)加工食品からの分析	66
結果・考察	66
1)測定法の改良	66
2)デヒドロアスコルビン酸の還元	66
3)ヒドラジン法と改良酵素法との比較	67
4)添加回収試験	67
5)加工食品からの分析	67
Ⅱ. 各論	68
1.測定原理	68
2.測定装置	68
2.1.器具・機器	69
2.2. 試薬・試液調整	70
3.酵素反応中の酸素遮断	71
3.1.研究目的	71
3.2.研究方法	71
3.3.研究結果	71
3.4.考察	73
4.酵素量の決定	74
4.1.研究目的	74
4.2.研究方法	74
4.3.研究結果	74
4.4.考察	75
5.還元剤の決定	76
5.1.研究目的	76
5.2.研究方法	76
5.3.研究結果	77
5.5) 考察	80
6.アスコルビン酸に対する還元剤ジチオトレイトールの影響	81
6.1.研究目的	81
6.2.研究方法	81
6.3.研究結果	82
6.4.考察	83
7. ブランク測定	84
7.1.目的	84
7.2.研究方法	84
7.3.研究結果	84
7.4.考察	86
8.検量線の作成	87
8.1.低濃度の検量線	87
8.1.1.研究目的	87

8.1.2.研究方法	87
8.1.3.研究結果	87
8.2.アスコルビン酸高濃度の検量線	90
8.2.1.研究目的	90
8.2.2.研究方法	90
8.2.3.研究結果	90
8.2.4.考察	92
9.アスコルビン酸添加実験	93
9.1.研究目的	93
9.2.研究方法	93
9.2.3.研究結果	94
9.5.考察	97
10.ヒドラジン法	98
10.1.研究目的	98
10.2.研究方法	98
10.2.研究結果	98
10.4.考察	99
11.酵素法とヒドラジン法の比較	100
11.1.研究目的	100
11.2.研究方法	100
11.3.研究結果	101
11.4.考察	102
12.市販食品中のビタミンC測定	103
12.1.研究目的	103
12.2.研究方法	103
12.2.1 試料	103
12.2.3 共通操作方法	110
12.3.研究結果	111
12.3.1 市販食品における酵素法による測定値一覧	139
12.4.考察	141

## A. 研究目的

今後のベニコウジ色素の構造、使用状況等の動向を予想し対応する目的で文献調査をした。ベニコウジ色素ともにVCの食品中からの分析法の改良を研究目的とした。

## B. 研究方法

最近のベニコウジ色素に関する動向を調査をするために、JICST を用いて文献の調査をした(第1部)。

食品中からのVCの分析は、酵素法を用いてその改良法と問題点を検討をした(第2部)。

## C. 研究結果と考察

最近のベニコウジ色素に関する文献調査をした結果、115 件の文献を得、分析し、動向調査をした。

食品中からのVCの分析は、従来の酵素法にアルゴンガスを用いることで可成りの改良を行うことが出来た。

## D. 結論

ベニコウジ色素の培養に関する研究が盛んに行われており、今後引き続き、新規成分とその安全性について注目していくことが必要である。

食品中からのVCの分析は、特に酵素阻害物質をを明らかにし、更に改良が必要である。

## E. 健康危機管理情報

本研究においては、シトリニンに関する文献以外は、特段の健康に危害を与えるような情報は得られなかった。

## F. 研究発表

市販ベニコウジ色素の調査 色素成分の構造について(その3)、義平邦利、栗山明広、渡辺敏郎、長谷川直樹、村上哲也、栗原宏二郎、平井孝昌、稲波治、澤木武、西山浩司、園田忠道、加藤喜昭、中村幹雄、日本食品化学学会第6回大会講演要旨、(2000.5.19)。

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## H. 報告書は、次の2部構成で作成した。

第1部 ベニコウジ色素に関する研究

第2部 酵素法によるL-アスコルビン酸分析法の改良に関する研究

## 第1部 ベニコウジ色素に関する研究

## 1. 研究目的

ベニコウジ色素の含有成分の構造、使用状況等の動向を予想し対応する目的で文献調査をした。

## 2. 研究方法

最近のベニコウジ色素に関する動向を調査をするために、JICST を用いて文献の調査をした。

## 3. 研究結果と考察

最近のベニコウジ色素に関する文献調査をした結果、

Monascus に関する文献：	239 件
紅麴に関する文献	： 75 件
紅麴色素に関する文献：	11 件

これらを本研究目的に即したものを整理して 115 件の文献を得、物質生産、Monascus 色素、製造法、食品中からの色素の分析、生理活性、シトリニン、Monascus anka、Monascus kaoliang、Monascus pilosus、Monascus purpureus、Monascus ruber、Monascus rubiginosus 等に分類し、整理した。

## 4. 結論

ベニコウジ色素の培養に関する研究が盛んに行われており、今後引き続き、新規成分とその安全性について注目していくことが必要である。

## 5. 健康危機管理情報

本研究においては、シトリニンに関する文献以外は、特段の健康に危害を与えるような情報は得られなかった。

## 6. 研究発表

市販ベニコウジ色素の調査 色素成分の構造について (その3)、義平邦利、栗山明広、渡辺敏郎、長谷川直樹、村上哲也、栗原宏二郎、平井孝昌、稲波治、澤木武、西山浩司、園田忠道、加藤喜昭、中村幹雄、日本食品化学学会第6回大会講演要旨、(2000.5.19.)。

## 7. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## I. ペニコウジ菌文献

### 1. 物質生産

#### 1) 色素生産

カッサバを利用する *Monascus kaoliang* (ペニコウジカビ) KB9 およびその色突然変異体の生物学について、カッサバから赤色色素を生産するために選抜した標題糸状菌をさらに改良するために、赤色、黄色および白色の突然変異株を選び、形態、培養特性、酵素、抗生物質、エタノールおよび色素生産を比較した。分子核型分類のための染色体 DNA を分離するために、プロトプラストの調製法を検討した。

#### -----文 献-----

YONGSMITH B, CHAIRISOOK C, CHITRADON L (Kasetsart Univ., Bangkok, THA), BUDDAN (Burapa Univ., Chonburi, THA), TANAKAA (Kyoto Univ., Kyoto, JPN); *Biotechnol Sustain Util Biol Resour Trop* Vol 11; 頁 212 - 220 (1996)。

KW: 生物色素, *Monascus*, カッサバ, 突然変異体, 核型, 分離育種, プロトプラスト

*Monascus spp.*を用いたカッサバ澱粉による黄色色素の発酵について、標記微生物によるカッサバ澱粉からの赤色色素の生産はよく知られている。ここでは黄色色素の生産について検討した。*Monascus barkeri* KB10 や *Monascus kaoliang* KB9 の変異株などにおいて黄色色素の生産が可能であることを見いだした。培養条件の検討や突然変異の導入により、最大吸収ピークが 330nm や 370nm に一つしかない黄色色素の生産が可能となったカッサバ澱粉はこの生産に都合のよい炭素源であると述べている。

#### -----文 献-----

YONGSMITH B, CHAIRISOOK C, CHIMANAGE P (Kasetsart Univ., Bangkok, THL), KRAIRAK S (King's Mongkut Inst. Technol., Bangkok, THL), TANAKA A (Kyoto Univ., Kyoto, JPN), YOSHIDA T, SHIOYA S (Osaka Univ., Osaka, JPN); *Annu Reports ICBiotech*; VOL.20 頁 755 - 764 (1997)。

KW: *Monascus*, カッサバ澱粉, 生物色素, 発酵制御, バイオリアクタ, 突然変異体, 発酵過程, pH 依存性, 培養条件, 吸収スペクトル, エノン, ジケトン, ラクトン

*monascus* のよるカッサバ澱粉からの黄色色素の生産について、標題細菌による黄色色素生産に及ぼす、培地の影響を振とう培養及びジャー培養で調べた。振とう培養で、カッサバ澱粉、グルコース、ペプトン、酵母エキス及び麦芽エキスの培地成分を最適化した。その結果、振とう培養では、C 源として 30g/l のカッサバ澱粉が、グルコースよりも生産性が高かった。ジャー培養では、カッサバ澱粉とグルコースで、生産性に差は無く、ジャー培養は、振とう培養に比較して、増殖速度が速かった。ジャー培養では、色素生産はグルコースが消費される前から始まり、振とう培養では、色素生産はグルコースが完全に消費されてから始まった。また、ジャー培養では、細胞は菌糸状又は小か粒状であったが、振とう培養では、細胞は大か粒状であったと述べている。

#### -----文 献-----

KRAIRAK S, NAKAJIMA M, SHIMIZU H, SHIOYA S (Osaka Univ., Osaka, JPN); 化学工学シンポジウムシリーズ; VOL.61 頁 122 - 126 (1998)。

KW: Monascus, カッサバ澱粉、食用着色料、振とう培養、回分培養、ペプトン、菌糸、か粒、深部培養、細胞増殖、エキス、酵母エキス、ヘキソース、アルドース

固体培養法によるモナスカス色素の生産について、炭素源として 50g/l のタピオカ澱粉での Monascus の単純な回分培養で、乾燥菌体重量は 8g/l に達した。培養開始後 40 時間目に菌体の増殖が停止してからポリケチド色素の生産が始まり、OD が 31 (500nm)、26.5 (400nm) に達した。400g/l のゼラチン化した澱粉ケーキを用いた 2 段階(液-固)回分培養で、菌体量は 37.5g/l、色素濃度は 145 (400、500nm) に達した。

-----文 献-----

LEE Y - K, CHEN D - C (National Univ. Singapore, Singapore), CHAUVATCHARIN S, SEKIT, YOSHIDA T (Osaka Univ., Osaka, JPN); J Ferment Bioeng; VOL.79, NO.5 頁 516 - 518 (1995)。

KW: 固体培養、回分培養、Monascus、細胞増殖、生物色素、天然着色料、カッサバ澱粉、芳香族縮合化合物

細菌セルロース-ナタ上での Monascus purpureus の発酵及び Monascus - ナタ複合体の色安定性について、酢酸菌属によって生産される細菌セルロースであるナタを、Monascus purpureus との発酵により着色した。走査電子顕微鏡により Monascus 菌糸体がナタのセルロースネットワークを通して増殖することが分かった。炭素源としての米粉と窒素源としてのグルタミン酸ナトリウムの添加により、30℃での 12 日間の培養後に魅力的な着色結果が得られた。染色したナタに比べて Monascus ナタ複合体の色は洗浄、熱、凍結、酸性化及びアルカリかに対して耐性が強かった。紫外線照射では若干の退色が見られた。

-----文 献-----

SHEU F (Univ. California, CA), WANG C L, SHYU Y T (National Taiwan Univ., Taipei, TWN); J Food Sci; VOL.65, NO.2 頁 342 - 345 (2000)。

KW: 酢酸菌属、Monascus、セルロース、代謝産物、発酵食品、発酵、色、着色、安定性、菌糸、細胞増殖、食品加工

塩、亜硝酸ナトリウム、ポリリン酸及び各種の糖に影響される Monascus purpureus の成長、色素産生とプロテアーゼ活性について、M.purpureus の増殖、色素産生、プロテアーゼ活性及び pH に対する標題物質の影響を調べた。塩化ナトリウムとポリリン酸塩は菌糸体成長、色素産生とプロテアーゼ活性を抑制し、低濃度の亜硝酸ナトリウムは増殖と色素産生を促進した。成長と色素産生にはフルクトース、次いでマルトースとグルコースが適していた。しょ糖とラクトースは増殖と色素産生を阻害し、プロテアーゼ活性を高めた。肉粉を用いた培養ではブイヨン培養液に比べて、増殖と色素産生における塩又はポリリン酸への耐性が増した。

-----文 献-----

TSENG Y Y (National Pingtung Univ. Sci. and Technol., Pingtung, TWN), CHEN MT

(National Chung Shing Univ., Taichung, TWN)、LIN C F (Inst. Microbial Resources, Taichung, TWN); J Appl Microbiol; VOL.88, NO.1 頁 31 – 37 (2000)。

KW: Monascus, 細胞増殖、生物色素、プロテイナーゼ、酵素活性度、pH 依存性、亜硝酸ナトリウム、ポリリン酸、塩化ナトリウム、菌糸、培地、ケトース、ヘキソース、グルコシド、ピラノシド、還元糖、二糖類、アルドース、フラノシド、フルクトオリゴ糖、ガラクトシド

発酵モデルシステムによる *Monascus purpureus* からの天然色素生産の研究について、*Monascus purpureus* を固体発酵モデルシステムで発酵して赤米を作った。赤米は乾燥粉末にして食用着色料として使える。基質の起源と前処理の影響、発酵中の異なる生化学的要因の経過とそれらの相互作用を調べ、新しい発酵システムの応用とそのスケールアップを検討した。基質による差が顕著だった。

-----文 献-----

SCHUMACHER J D, KUNZ B (Rheinische Friedrich – Wilhelms – Univ. Bonn, Bonn, DEU)、BYOUN K – E (Soonchunhyang Univ., Onyang Chungnam, KOR); Adv Food Sci; VOL.18, NO.3/4 頁 113 – 120 (1996)。

KW: Monascus, 固体培養、米、発酵、生物色素、培養条件、天然着色料、代謝産物

*Monascus purpureus* の色素脱失株による脂質生産について、赤色色素生産性標頭子囊菌類 DSM1379 の親株から色素脱失変異株 (I) を MEPAG 固体培地上で選別した。I の深部培養における I の生合成速度を Chapec Dox 培地の C/N 比を塩化アンモニウムで 10:1 及び 80:1 に調整して求めた。グルコース及び窒素の消費速度と脂質生産から C/N 比 80:1 がより効率的に脂質を生合成することが分かった。C/N 比及び窒素源によって中性脂質、りん脂質及び糖脂質の組成は影響されなかった。遊離脂肪酸の組成は主に C18:1 (45.5%) と C16 (22.1%) で構成されていた。I は 51% の飽和脂肪酸を含むトリグリセリドの割合が 88% の脂質を高濃度生産した。

-----文 献-----

RASHEVA T, KUJUMDZIEVA A (Univ. Sofia, Sofia, BGR)、HALLET J – N (Univ. Nantes, Nantes, FRA); J Biotechnol; VOL.56, NO.3 頁 217 – 224 (1997)。

KW: Monascus, 色素脱失、突然変異体、脂質、発酵、培養条件、栄養素要求性、深部培養、バイオマス、脂肪酸組成

米粒懸濁培地を用いた塔型バイオリアクタによる *Monascus purpureus* の培養について、標頭菌による赤色色素生産には通常固体培地が用いられるが、培養時間が長い、スケールアップが困難等の問題があった。本報では米粒懸濁液を用いた改良型塔型リアクタにより深部培養を可能にし、高効率の色素生産を行う方法を開発した。直径 13cm、高さ 200cm のカラム内にワイヤーメッシュのドラフトチューブを設け、リング型スパージャーにより通気を行った。従来のバブルカラムより完全混合時間が短縮され、高い酸素移動容量係数 (kLa) が得られ、色素生産は 80% 高くなった。

-----文 献-----

WU W - T, WANG P - M, CHANG Y - Y, HUANG T - K, CHIEN Y - H (National Tsing Hua Univ., Hsinchu, TWN); Appl Microbiol Biotechnol; VOL.53, NO.5 頁 542 - 544 (2000)。

KW: Monascus, 生物色素、深部培養、米、懸濁液、混合装置、バイオリアクタ、塔型反応器、物質移動、培養条件

アルギン酸固定化 *Monascus purpureus* 培養による色素産生の改良について、*M.purpureus* DSM1379 の培地を最適化し、アルギン酸カルシウムで固定化することにより、色素産生性を改善する検討を行なった。グルコースと無機物よりなる培地で培養すると、非固定化培地と比較して、黄 1.5 倍、だいたい 1.5 倍、赤 1.6 倍の色素を生成した。しかし、非固定化培養の菌体内色素量は、固定化培養のそれより、それぞれ 1.8、4.6 および 3.2 倍多かった。培養の最適化を検討したところ、固定化培養では炭素源はマルトース、窒素源はグルタミン酸ナトリウム、無機塩は硫酸マグネシウム、りん酸カリウムがよかった。微量元素についても最適濃度を求めた。初発 pH6 ~ 7 が好ましく、この範囲では黄色色素生成が多かった。この条件で 30 °C、7 ~ 12 日間培養することにより、菌体外色素を効率的に生産できる。

-----文 献-----

EL - NAGGAR M Y, HASSAN M A, EL - DAKKAK AH, EL - ASSAR S A (Alexandria Univ., Alexandria, EGY); Adv Food Sci; VOL.22, NO.1/2 頁 22 - 30 (2000)。

KW: Monascus, 代謝産物、生物色素、アルギン酸、固定化微生物、バイオリアクタ、培養条件、生体内蓄積、硫酸マグネシウム、りん酸カリウム、微量元素、アミノ酸、カルボン酸塩、ジカルボン酸、脂肪族アミン、脂肪族カルボン酸、第一アミン

*Monascus ruber* 培養からの、化学量論モデルを使ったバイオプロセス変数の予測について、グルコースまたはエタノールを炭素源とした回分培養を行い、ブラックボックスモデル(I)を使ってバイオマスとリンゴ酸生成における変数を予測している。I による予更は可能ではあったが、物質収支モデルの方が、I より少ない分析情報量で、かつ実測値と計算予測値の良い相関を示した。

-----文 献-----

PASTRANA L, GOMA G (INSA, Toulouse, FRA); Process Biochem; VOL.30, NO.7 頁 607 - 613 (1995)。

KW: Monascus, 回分培養、数学モデル、菌体量、シミュレーションモデル、ブラックボックス、物質収支、脂肪族アルコール、脂肪族カルボン酸、ヘキソース、アルドース、アミノ酸、脂肪族アミン

窒素源を厳密に制御した合成培地における *Monascus ruber* による赤色色素の生産について、標題のかびをグルタミン酸モノナトリウムを単一窒素源とする合成培地で培養すると赤色色素が生成した。本菌の増殖及び色素生産は CO<sub>2</sub> 富化培養で強化された。フラスコ培養では菌糸ペレットが大きい場合にエタノールの生産性が増加し、小さい場合に色素の生産が増加した。色素の生産速度のピークは比増殖速度のピークに先立って現れた。

-----文 献-----

PASTRANA L, BLANC P J, SANTERRE A L, LORET M O, GOMA G (INSA, Toulouse, FRA); Process Biochem; VOL.30, NO.4 頁 333 - 341 (1995)。

KW: Monascus, 生物色素, 発酵制御, 液体培地, エアレーション, 細胞増殖, アミノ酸, 脂肪族アミン, 脂肪族カルボン酸, 化学調味料, カルボン酸塩

Monascus(ベニコウジカビ, 不整子囊菌類)を利用したカッサバ澱粉による黄色色素の発酵について, スクリーニングおよび培養条件検討の結果, M.barkeri KB10 または M.kaoliang KB9 の二次突然変異体が黄色色素のみを生産することを見いだした。前者は 330nm, 後者は 370nm に吸収の極大値を持つ色素を生産した。KB9 の野生株に紫外線を照射して生産色素の変化を調べた。黄色色素の生産に対して, 炭素源はカッサバ澱粉が最適であり, 大豆粉は最良の促進物質であったと述べている。この組み合わせにおける菌塊の大きさと形が黄色色素の生産に最適であったと述べている。

-----文 献-----

YONGSMITH B, CHAIRISOOK C, CHIMANAGE P (Kasetsart Univ., Bangkok, THA), KRAIRAK S (King's Mongkut Inst. Technol., Bangkok, THA), TANAKA A (Kyoto Univ., Kyoto, JPN), YOSHIDA T, SHIOYA S (Osaka Univ., Osaka, JPN); Biotechnol Sustain Util Biol Resour Trop Vol 12; 頁 235 - 244 (1997)。

KW: 植物色素, Monascus, 突然変異体, カッサバ澱粉, 大豆粉, 菌糸, 形態, 発酵過程, 電子吸収スペクトル

Monascus(ベニコウジカビ, 不整子囊菌類)の一種によるカッサバ澱粉からの黄色色素の生産について, Monascus sp.KB20M10.2 による黄色色素の生産に対する培地の影響を調べ, カッサバ澱粉, ペプトン, 酵母エキスおよび麦芽エキスの最適の混合割合を決定した。振とうフラスコを用いた培養では, カッサバ澱粉の代わりにグルコースを用いると色素の生産が減少した。ジャー発酵槽を用いると, 細胞増殖が速くなり, 炭素源による色素生産量の差はなくなった。振とうフラスコとジャー発酵槽では, 色素生産の開始時期および細胞形態に相違があった。

-----文 献-----

KRAIRAK S, NAKAJIMA M, SHIMIZU H, SHIOYA S (Osaka Univ., Osaka, JPN), CHIMANAGE P, YONGSMITH B (Kasetsart Univ., Bangkok, THA); Biotechnol Sustain Util Biol Resour Trop Vol 12; 頁 230 - 234 (1997)。

KW: 植物色素, Monascus, カッサバ澱粉, 液体培地, ペプトン, 酵母エキス, 麦芽, 細胞増殖, 形態, 発酵槽

## 2) $\gamma$ -アミノ酪酸含量

紅麴の嫌気処理による $\gamma$ -アミノ酪酸含量の変化について, 加水・煮沸加熱した $\alpha$ 米に市販紅麴を一割加え, 28℃, 70%湿度で13日間培養した。この紅麴20gを平底フラスコに入れ, 二酸化炭素あるいは窒素ガスで置換し, 28℃で18時間嫌気処理した。その結果, 紅麴の $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)含量は, 未処理紅麴に比べ, 二酸化炭素処理で3.8倍, 窒

素ガス処理で 3.3 倍となった。また、7 日間培養した紅麹を用いた二酸化炭素処理では、処理時間が長くなる程 GABA 含量が増加した。また、グルタミン酸含量も時間の経過と共に増加した。グルタミン酸は脱炭酸されて GABA となる。紅麹のグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) 活性の至適 pH は約 5 であるため、二酸化炭素処理により菌体内の pH が低下して GAD 活性の至適 pH に近付くことによりグルタミン酸から GABA への変換が促進されると推測した。

-----文 献-----

河野勇人 (岡山県工技セ); 岡山県工業技術センター報告; NO.26 頁 84 - 85 (2000)。

KW: 麹、培養条件、嫌気性処理、二酸化炭素、窒素、グルタミン酸デカルボキシラーゼ、pH 依存性、有機酸発酵、*Monascus*、アミノカルボン酸、脂肪族アミン、脂肪族カルボン酸、第一アミン、アミノ酸、ジカルボン酸

紅麹製麹中における  $\gamma$ -アミノ酪酸含量の変化について、*Monascus pilosus* IFO4520 株の紅麹を友麹に用いたときの、紅麹製麹中における GABA 含量の変化について検討した。その結果、友麹割合が高いほど GABA 生成量が多くなり、製麹 5 日目で最も生成量が高くなり以降減少した。GAD 活性は製麹後徐々に高まり、製麹 5 日目が最高であったと述べている。一方、コハク酸は製麹 6 日目以降生成量が高くなった。また、菌体量は製麹 6 日目以降定常期になった。これより、友麹割合を高くするほど GABA 生成量は多くなり、製麹 6 日目以降 GABA 生成量が少なくなると同時に分解量も高まることから、製麹 5 日目で GABA 生成量が最も高くなるものと思われた。(著者抄録)。

-----文 献-----

KONO I (Ind. Technol. Center of Okayama Prefecture, Okayama, JPN)、HIMENO K (Himeno Fermented Food Office, Okayama, JPN); *Biosci Biotechnol Biochem*; VOL.64, NO.3 頁 617 - 619, 634 (2000)。

KW: *Monascus*、麹、製麹、経時変化、アミノカルボン酸、脂肪族アミン、脂肪族カルボン酸、第一アミン、ジカルボン酸

### 3) グルコアミラーゼ

*Monascus* sp.KB9 の色彩突然変異体及び米固体培養におけるそれらのグルコアミラーゼ比較について、*Monascus* sp.KB9 株を用いて、炭水化物ベースの農産物を付加価値のある色素に変換した。この株の紫外線による突然変異と単離は、色素生成物の収量を改良することが分かった。赤色変異体及び黄色変異体の 2 種の色素産生株を得た。また、白色変異体の 1 種を得た。これらの色彩突然変異体を用いて、米固体培養でのグルコアミラーゼ産生を比較した。米の湿度量 35 ~ 43% が、これらの株のグルコアミラーゼに好影響を与えることが分かった。白色変異体は、色素の産生能力を失い、元の株とは異なった形態を示した。この株は、 $4.07 \times 10^5$  U/g 乾燥重量の最も高いグルコアミラーゼ酵素を産生した。この値は、野生株、赤色及び黄色変異体のそれぞれ、3、7 及び 16 倍であったと述べている。この粗酵素は、65 °C 及び最適 pH 4.7 で好熱性を示した。

-----文 献-----

YONGSMITH B, KITPRECHAVANICH V, CHITRADON L, CHAIRISOOK C (Kasetsart

Univ., Bangkok, THA), BUDDA N (Burapa Univ., Chon Buri, THA); Mol Catal B: Enzym; VOL.10, NO.1/3 頁 263 - 272 (2000)。

KW: Monascus, 固体培養、突然変異体、グルコアミラーゼ、米、酵素的合成、色素、好熱性

#### 4) N-グルコシルプロブクタミン及び N-グルコシルモナスコルブラミン

Monascus ruber による N-グルコシルプロブクタミン及び N-グルコシルモナスコルブラミンの生産及び同定並びにこれらの赤色色素での電子供与体-受容体複合体の発生について、食品添加色素の生産に用いている標題繊維状真菌の産生する新規菌体外水溶性色素の産生、抽出、精製、構造及び分子特性について述べた。グルコース及びグルタミン酸 1-ナトリウム含有規定培地での深部培養で本菌は約 100h で最大色素量を産生した。過剰グルコース (20g/L) 添加培養では全色素量の 10% が新規の色素であったと述べている。培養上清の水飽和 n-ブタノール抽出及び HPLC 精製で得た新規色素は標題 2 色素であると構造決定した。両色素の電子供与体-受容体複合体効果の発生は UV 吸収、ポーラログラフィー及び薄層ポルタンメトリーによって証明した。なお、n-ブタノール抽出は新規両色素の日光下数か月の安定性を示した。

#### -----文 献-----

HAJJAJ H, LORET M O, GOMA G, BLANC P J (Inst. National des Sci. Appliquees de Toulouse, Toulouse, FRA), KLAEBE A (Lab. IMRCP, CNRS, FRA), TZEDAKIS T (Univ. Paul Sabatier, Toulouse, FRA); Appl Environ Microbiol; VOL.63, NO.7 頁 2671 - 2678 (1997)。

KW: 生物色素、Monascus, グリコシル化、ドナー、アクセプタ、ドナー-アクセプタ対、菌体外蓄積、細胞分泌、深部培養、水溶性、貯蔵安定性、構造解析、ヘキソース、アルドース、アミノ酸、脂肪族アミン、脂肪族カルボン酸、脂肪族アルコール

Monascus sp.による黄色生物色素の生産について、突然変異株 Monascus sp.KB20M10.2 はカッサバ澱粉と大豆粉寒天(CS)培地において pH2.5 ~ 7.0 で純粋黄色色素を生産する。大豆粉は固体状であるので、完全可溶性成分をベースにした新しい培地を検討した。炭素源および窒素源を考慮して、ペプトン(P)、酵母エキス(Y)、麦芽エキス(M)、グルコース(G)、カッサバ澱粉(C)を組合せた。CPMY 培地(組成はそれぞれ、3.0%、2.0%、2.0%、2.0%)は培養 168 時間後に 563U/ml の黄色色素を生産し、CS 培地(それぞれ 3.0%、4.0%)と同等の性能であったと述べている。CPMY 培地において、細胞濃度は 48 時間以内に最大値に達し、その後緩やかに低下した。一方色素生産は 36 時間後から始まり、120 時間後に最大値を示した。

#### -----文 献-----

KRAIRAK S, NAKIJIMA M, SHIMIZU H, SHIOYA S (Osaka Univ., Osaka); 化学工学会秋季大会研究発表講演要旨集; VOL.30th, 第 2 分冊 頁 375 (1997)。

KW: Monascus, 突然変異体、生物色素、黄、液体培地、細胞培養、カッサバ澱粉、大豆粉、酵母エキス、ペプトン、水溶性、麦芽、アルドース、ヘキソース

Monascus sp.による水溶性赤色色素の生産に与える窒素源としての硝酸アンモニウムの抑制的効果について、従来、標記色素 (I) の生産用培地の N 源として用いられてきた NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> は I の生成を抑制し、I は細胞に吸着されることを見い出した。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> は標記色素合成酵素の生成阻害や同酵素の分解を促進することはないが、酵素作用をやや抑制した。また、I が細胞に吸着されても、新たな I の合成には影響を与えなかった。

-----文 献-----

LIN T F, DEMAINE A L (Massachusetts Inst. Technol., MA, USA); Appl Microbiol Biotechnol; VOL.43, NO.4 頁 701 - 705 (1995)。

KW: Monascus, 生物色素, 培地, 硝酸アンモニウム, 代謝阻害, 発酵制御

ウチワサボテンの果汁による Monascus purpureus 培養での赤色色素の生産における通気条件の影響について、Monascus purpureus の増殖におけるガス環境の影響を pO<sub>2</sub> を変化させて研究した。第 1 発酵は短期間、第 2 発酵は長期間各々低 pO<sub>2</sub> (10%) に保ちながら比較した。バイオマスは糖消費とエタノール生成、次いでエタノール消費に続いて赤色色素の蓄積という二段階において増加した。赤色色素形成はグルコースとフルクトースが完全に同化され、エタノール消費が始まったときにスタートした。

-----文 献-----

HAMDI M, BLANC P J, GOMA G (Inst. National des Sci. Appliquées, CNRS, Toulouse, FRA); Process Biochem; VOL.31, NO.6 頁 543 - 547 (1996)。

KW: Monascus, 生物色素, サボテン科, 発酵過程, 酸素エアレーション, 細胞増殖, 発酵制御, 食用着色料

Saccharomyces cerevisiae または Aspergillus oryzae との共培養における Monascus の形態変化と色素生産の促進について、しょ糖を含む培地で標題の色素生産菌を酵母菌および麹菌と共培養した。その結果、Monascus は形態が目立って変化した。共培養で増殖は 2 倍、色素生産は 30 ~ 40 倍に達した。この際標題酵母菌との共培養が最適であったと述べている。色素生産と形態変化は対応した。酵母菌の培養ろ液も形態変化に有効で、加水分解酵素の寄与が示唆された。市販の麹菌由来の  $\alpha$ -アミラーゼ、プロテアーゼは有効であったと述べている。ぶどう球菌、放線菌、かん菌属由来の加水分解酵素は効果がなかった。

-----文 献-----

SHIN C S, KIM H J, KIM M J, JU J Y (Yonsei Univ., Seoul, KOR); Biotechnol Bioeng; VOL.59, NO.5 頁 576 - 581 (1998)。

KW: Monascus, Saccharomyces cerevisiae, 米麹菌, 固体培養, 形態, 生物色素, 微生物酵素剤, アルファアミラーゼ, ペプチドヒドロラーゼ, 酵素的分解, 混合培養, 生物相互作用, 培養, プロテイナーゼ

糸状菌類によるスタチンの生産について、全部で 21 株の Aspergillus terreus 及び Monascus 種について、ロバスタチン、モナコリン J、プラバスタチン及びメバスタチンの生産量を比較した。脱脂していない大豆粉培地で培養した場合にロバスタチン生産量が最も高かったのは M.paxii AM12 の突然変異体である AM12M 株で、21 日後には 127mg/L に達した。