

-----文 献-----

JUZLOVA P (Inst. Chemical Technol., Prague, CSK), REZANKA T, MARTINKOVA L, KREN V (Inst. Microbiology, Prague, CSK); *Phytochemistry*; VOL.43, NO.1 頁 151 - 153 (1996)。

KW: *Monascus*, 脂肪族カルボン酸, 脂肪酸組成, 突然変異体, GC - MS 分析, 不飽和カルボン酸, ジエン

### 5) 脂質生産

*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比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

### 6) 発酵赤米

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

### 7) 固体培養

*Monascus purpureus* の固体培養 増殖、炭素収支、およびコンシステンシーの解析について、標頭菌 ATCC 16392 株を蒸米を基質として回分式に固体培養した。経時的にガスの発生量、菌体量、色素等の変化を追跡した。従来の炭素収支では基質の炭素の 83 ~ 94% が明らかにされていた。菌体の窒素についてはかなり低い見積もりをしていたことがわかった。二酸化炭素とエタノールの低い見積もりも指摘された。単純な化学量論的モデルを用

いてエタノール生成量を推定し、おおよその収支を初発炭素の 87 ~ 99%と見積もった。

-----文 献-----

ROSENBLITT A, AGOSIN E, DELGADO J, P... REZ - CORREA R (Pontificia Univ. Cat... lica de Chile, Santiago, CHL); *Biotechnol Prog*; VOL.16, NO.2 頁 152 - 162 (2000)。

KW: *Monascus*, 固体培養, 米製品, 生物色素, 発酵過程, 回分培養, 物質収支, 培養条件, 二酸化炭素, 主成分分析, 細胞増殖, 数学モデル, 菌体量, 窒素, エノン, ジケトン, ラクトン, 脂肪族アルコール, 脂肪酸, ヘキソサミン, オレフィン化合物

### 8) 深部培養

*Monascus purpureus* の深部培養による赤色色素生産のための新規プロセスについて、深部培養システムにおいて、エタノールを基質として培養した栄養菌糸を種菌として使用した。生産培地では炭素源をグルコースとし、りん酸濃度を低くし、かつ初発 pH は 5.5 とした。この培地での赤色色素の収量はエタノールを基質とした場合に比較して 2 倍であったと述べている。グルコースを初発炭素源として用い、ついでエタノールを添加して、収率よく赤色色素を生産する新規プロセスを確立した。エタノールに対する赤色色素の収量は 0.8 ~ 1.1(ODU/g)であったと述べている。

-----文 献-----

HAMDI M (Ecole Sup... rieur des Ind. Alimentaires, Tunis, TUN), BLANC P J, LORET M O, GOMA G (INSA, Toulouse, FRA); *Bioprocess Eng*; VOL.17, NO.2 頁 75 - 79 (1997)。

KW: *Monascus*, 生物色素, 深部培養, 発酵, 発酵制御, ヘキソース, アルドース, 脂肪族アルコール

### 9) バイオリアクタ

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、標題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

固定化 *Monascus purpureus* による色素の反復バッチ生産について、標題真菌類 C322 をアルギン酸カルシウムやポリウレタンスポンジ、活性炭、パ-ライト等の各種固定化担体を用いて固定化し、反復回分発酵法による天然着色料の増産法を検討した。その結果、アル

ギン酸カルシウム固定化 C322 が最大色素生産性を示した。固定化 C322 からの遊離菌数は無視できた。固定化ビーズは反復 9 バッチ、55 日間の運転が可能であり、安定性は良好であったと述べている。色素生産性は 3.87UA470/日であったと述べている。

-----文 献-----

FENICE M, FEDERICI F, SELBMANN L, PETRUCCIOLI M (Univ. of Tuscia, Viterbo, ITA); J Biotechnol; VOL.80, NO.3 頁 271 - 276 (2000)。

KW: Monascus, 固定化微生物, 回分培養, アルギン酸, ポリウレタン, 活性炭, パーライト, 天然着色料, バイオリアクタ

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、色素生産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 purpureus* の固体培養 増殖、炭素収支、およびコンシステンシーの解析について、標題菌 ATCC 16392 株を蒸米を基質として回分式に固体培養した。経時的にガスの発生量、菌体量、色素等の変化を追跡した。従来の炭素収支では基質の炭素の 83 ~ 94% が明らかにされていた。菌体の窒素についてはかなり低い見積もりをしていたことがわかった。二酸化炭素とエタノールの低い見積もりも指摘された。単純な化学量論的モデルを用いてエタノール生成量を推定し、おおよその収支を初発炭素の 87 ~ 99% と見積もった。

-----文 献-----

ROSENBLITT A, AGOSIN E, DELGADO J, P ·· REZ - CORREA R (Pontificia Univ. Católica de Chile, Santiago, CHL); Biotechnol Prog; VOL.16, NO.2 頁 152 - 162 (2000)。

KW: Monascus, 固体培養, 米製品, 生物色素, 発酵過程, 回分培養, 物質収支, 培養条件, 二酸化炭素, 主成分分析, 細胞増殖, 数学モデル, 菌体量, 窒素, エノン, ジケトン, ラクトン, 脂肪族アルコール, 脂肪酸, ヘキソサミン, オレフィン化合物

## 10) 複合体の色安定性

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

### 11) ソーセージ色調

天然色素材の助けによる生エジプト牛肉ソーセージ色調の最適化; Optimierung der Farbe frischer aegyptischer Rindswuerste mit Hilfe natuerlicher Farbstoffe. について、エジプト生牛肉ソーセージの製造で、亜硝酸塩の代替物として天然色素の作用を調べた。使用した天然色素材は中国の発酵産物の赤米、各種の *Monascus purpureus* で製造した色素及び市販品であったと述べている。各添加量を変えた製品を-18℃、30日間の貯蔵後に理化学的検査を行った結果、肉 1kg 当たり 1～2g の赤米製品を添加したソーセージが最もよかった。

-----文 献-----

SHEHATA H A (Suez Canal Univ., Ismailia, EGY), BUCKENHUESKES H J (Gewuerzmueller GmbH, Stuttgart), EL - ZOGHBI M S (Zagazig Univ., Zagazig, EGY); 363X) Fleischwirtschaft; VOL.78, NO.1 頁 68 - 71 (1998)。

KW: 天然着色料, 発酵食品, *Monascus*, 米製品, ソーセージ, 食肉加工, 冷凍貯蔵, 貯蔵安定性, 中国, 伝統食品

### 12) 水産副産物の発酵調味料

かつお節残さの微生物処理と調味料への利用について かつお節残さの微生物処理についてについて、調味料の製造の際に廃出されるかつお節残さの効果的利用を図るために、残さの微生物処理法について試みた。かつお節残さと糖質として加えたいり小麦粉、米ヌカあるいは小麦フスマの混合物に十種類の微生物 (*Aspergillus oryzae*, *Asp. sojae* IFO - 4200, *Asp. sojae* IFO - 30112, *Asp. niger*, *Rhizopus javanicus* IFO - 5541, *Mucor javanicus* IFO - 4569, *Penicillium chrysogenum* IFO - 8648, *Monascus purpureus*, *Monascus anka*, *Asp. sojae*+*Asp. oryzae*) をそれぞれ接種し、水分が50%になるように滅菌水を添加した後、30℃で10日間醗酵を行い、抽出した粗酵素液について酵素活性を測定した。その結果、*Asp. sojae* と *Asp. oryzae* の混合菌を使用した場合に中性プロテアーゼ活性が最も高く、中性プロテアーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼおよびグルタミナーゼの活性は、それぞれ 1238.08, 167.66, 152.99, 0.47, 5.54 units/g d.m. であったと述べている。醗酵は、かつお節残さにいり小麦粉を 10 - 20% (wt.%) 添加

し、醱酵における水分を 55%として 30℃、7 - 9 日間が適した。続いて、醱酵とその分解物の熱水抽出液の蛋白含量との関連について調べた結果、溶解率は 30℃、9 日間では 28.50%、30℃、30 日間では 34.91%と低かった。しかしながら、醱酵に引き続き熟成を行った結果、熟成期間が長くなるに従って溶解性蛋白含量は増大し、溶解率は 30℃、30 日間では 77.17%、35℃、30 日間では 74.34%であったと述べている。

-----文 献-----

斎藤宗久 (長崎県工技セ)、加藤秀男、林田真二郎、古賀昭八郎 (長工醤油味噌協同組合); 長崎県工業技術センター研究報告; NO.23 (1995) 頁 142 - 149 (1996)。

KW: かつお節、水産副産物、微生物分解、米麹菌、*Aspergillus*、ペプチドヒドロラーゼ、カルボキシペプチダーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ、グルタミナーゼ、酵素活性度、熟成、発酵調味料

### 13) 分析 EPR

照射した *Monascus purpureus* 赤色色素の EPR 同定について、EPR を用いて  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  線 (I) および 7MeV 電子線 (II) の標題の色素に対する照射効果および事前照射処理の同定について調査した。照射前の EPR 線は 1 本の細い線であったと述べている。I または II を照射すると、EPR 線の大きさが 10kGy まで吸収線量に従って飽和指数関数的に増加した。アニール処理中は EPR 線の大きさは半減期 2.30 分で指数関数的に減少した。

-----文 献-----

DULIU O G (Univ. Bucharest, Bucharest, ROM)、FERDES M (Inst. Food Chemistry, Bucharest, ROM)、FERDES O S (National Inst. Lasers, Bucharest, ROM); Radiat Phys Chem; VOL.57, NO.1 頁 97 - 101 (2000)。

KW: ESR【磁気共鳴】、ガンマ線照射、コバルト 60、*Monascus*、電子照射、生物色素、放射線分解、キノン、赤、線量反応相関、ラジカル、放射線殺菌、食品照射、生物学的放射線効果、焼なまし

### 14) 抗高コレステロール血症

*Monascus purpureus* が発酵した米 (赤酵母米) 高コレステロール血症動物モデルの血液コレステロールを下げる天然食糧産物について、25%カゼイン飼料摂取により血清コレステロールが上昇したウサギに、同じ飼料を与え続けながら標題の発酵赤酵母米を一日 0.2、0.4 及び 0.8g/kg・体重与えると、いずれの群でも摂取量に応じて血清総コレステロールは減少した。また卵黄、ラード、コレステロールを含む飼料の摂取によりコレステロールの上昇した状態でも発酵赤酵母米投与により血清コレステロールは減少した。ラード、大豆油にコレステロールを添加した飼料を与えたウサギでも、発酵赤酵母米投与により血清コレステロールやトリグリセリドの低下が観察された。

-----文 献-----

LI C, ZHU Y, WANG Y (Beijing Medical Univ., Beijing, CHN)、ZHU J - S, CHANG J (Pharmanex, Inc., CA)、KRITCHEVSKY D (WistarInst., PA); Nutr Res; VOL.18, NO.1 頁 71 - 81 (1998)。

KW: 米製品、発酵食品、*Monascus*、高コレステロール血症、ウサギ、食餌効果、脂

質低下作用、血清中濃度、アテローム性動脈硬化症、伝統食品、ステロール、脂環式アルコール

## 5. *Monascus ruber*

### 1) 色素産生

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

### 2) N-グルコシル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ボ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-----

HAIJAJ 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

### 3) シトリニン

*Monascus* の液体及び固体培地の培養による色素及びシトリニンの生産について、*Monascus purpureus* 及び *M.ruber* は液体培養で色素とシトリニンを生産した。両菌によるシトリニン

の生成量はそれぞれ 240mg/l、370mg/l であったと述べている。一方、米を基質とした固体培養では基質 1kg 当たりそれぞれ 100mg、300mg のシトリニンを生産した。シトリニンは抗菌性があるので、非生産菌の使用、非生産条件の検討が必要とみられた。

-----文 献-----

BLANC P J, LORET M O, GOMA G (INSA, Toulouse, FRA); *Adv Solid State Ferment*; 頁 393 - 406 (1997)。

KW: *Monascus*, 固体培養、深部培養、生物色素、米、発酵、発酵制御、麴、エノール、カルボン酸、脂環式化合物、ジエン、酸素複素環化合物、エノン、マイコトキシン

恒温・恒湿度条件下のトウモロコシ穀粒のコロニー形成糸状菌について、カリフォルニア州南部で収穫した皮つきトウモロコシを 10 ~ 40 °C、4 段階の相対湿度で貯蔵し、発生する糸状菌を調べた。その結果、収穫前にもみられる *Acremonium zeae*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium pinophilum* 等が認められた。 *Eupenicillium cinnamopurpureum*, *Monascus ruber* は貯蔵条件下でのみ検出された。高湿度条件では、貯蔵温度に関わらず *Eurotium chevalieri* が 50 ~ 96% も発生した。 *E.chevalieri* が 33% を超えて発生した穀粒サンプルでは *A.zeae*, *F.moniliforme* の発生が低下し、発芽率はゼロになった。30 ~ 40 °C かつ含水率 9.4 ~ 14.2% では、穀粒の 50% を超えて発生する糸状菌は認められなかった。

-----文 献-----

WICKLOW D T (Agricultural Res. Serv., USDA, IL, USA), WEAVER D K (Agricultural Res. Serv., USDA, FL, USA), THRONE J E (Agricultural Res. Serv., USDA, KS, USA); *J Stored Prod Res*; VOL.34, NO.4 頁 355 - 361 (1998)。

KW: トウモロコシ、糸状菌類、貯蔵、コロニー、温度依存性、相対湿度、穀粒、含水量、黄色麴菌、ポストハーベスト、種差、カリフォルニア、発芽、*Fusarium*

の合成培地深部培養におけるシトリニン産生について、標記かびの合成培地(エタノール+無機塩類)培養においてシトリニン産生が認められることを先に報告したが、今回その産生経過の速度論的解析を進めた。その結果、菌体増殖速度とエタノール消費速度が上昇期にある間は特有の赤色色素群を盛んに産生するが、それら両速度が下降に転じるとシトリニン産生が起こった。

-----文 献-----

PASTRANA L, LORET M O, BLANC P J, GOMA G (INSA, CNRS, Toulouse, FRA); *Acta Biotechnol*; VOL.16, NO.4 頁 315 - 319 (1996)。

KW: *Monascus*, 深部培養、生産性、菌体量、生物色素、代謝産物、バイオマス、培地、エノール、カルボン酸、脂環式化合物、ジエン、酸素複素環化合物、エノン、マイコトキシン、脂肪族アルコール

*Monascus* の産生するシトリニン、モナシジン A の性状について、標題菌種が産生するモナシジン A について、生物学的性状に関する試験、質量分析、NMR 解析等の結果、種々の真菌の産生する腎毒素、シトリニンの性状を示すことを認めた。 *M.purpureus*, *M.ruber*

の産生する毒素は、液内培養ではそれぞれ 270、340mg/l、固形培養ではそれぞれ 100、300mg/kg 乾重であったと述べている。

-----文 献-----

BLANC P J、 LORET M O、 PAREILLEUX A、 GOMA G (Inst. National des Sci. Appliquées、 Toulouse、 FRA)、 LAUSSAC J P (Lab. Chimie de Coordination、 CNRS、 Toulouse、 FRA)、 LE BARS J、 LE BARS P (INRA、 Toulouse、 FRA)、 PROMÉ D、 PROMÉ J C (Lab. Pharmacologie et de Toxicologie Fondamentales、 CNRS、 Toulouse、 FRA); Int J Food Microbiol; VOL.27、 NO.2/3 頁 201 - 213 (1995)。

KW: Monascus、腎毒性、生物活性、質量分析、NMR【磁気共鳴】、生物色素、食品汚染、微生物汚染、エノール、カルボン酸、脂環式化合物、ジエン、酸素複素環化合物、エノン、マイコトキシン

Monascus 属各種によるシトリニンの生産について、食品赤色色素として使用される標頭真菌に属する *M.ruber* (I)、*M.pilosus*、*M.purpureus* (II) を各種培地と、深部培養又は固相培養の培養条件下で腎毒性を示す標記シトリニン(モナシジン A) (III) の産生を検討した。I と II が産生した。II は深部培養で最大 III240mg/L を産生した。I の III 産生は N 源を尿素又はメチオニンとした場合、色素産生と共に減少したが、グルタミン酸ナトリウムの場合増加した。

-----文 献-----

BLANC P J、 LORET M O、 GOMA G (Inst. National des Sciences Appliquées、 Toulouse、 FRA); Biotechnol Lett; VOL.17、 NO.3 頁 291 - 294 (1995)。

KW: Monascus、腎毒性、食品汚染、食品衛生、食品加工、天然着色料、深部培養、固体培養、生物色素、エノール、カルボン酸、脂環式化合物、ジエン、酸素複素環化合物、エノン、マイコトキシン、ウレア化合物、脂肪族アミン、スルフィド、脂肪族カルボン酸、含硫アミノ酸、アミノ酸、化学調味料、カルボン酸塩

有機酸蓄積の関数としての *Monascus ruber* による赤色色素とシトリニン生産の動力学解析について、標記菌のグルコースとグルタミン酸含有合成液体培地内培養による着色料用色素とマイコトキシン生産を調べた。過剰酸素存在下ではマイコトキシン生産は二次代謝産物生産過程をたどったが、色素生産は阻害機構をたどって急速に低下した。りんご酸とこはく酸生産は、色素生産に対してほとんど阻害効果を示さず、マイコトキシン生産への影響はなかった。ポリケチド経路の色素生産阻害因子につき論じている。

-----文 献-----

HAJJAJ H、 BLANC P、 GROUSSAC E、 URIBELARREA J - L、 GOMA G、 LOUBIERE P (Inst. National des Sci. Appliquées、 Toulouse、 FRA); Enzyme Microb Technol; VOL.27、 NO.8 頁 619 - 625 (2000)。

KW: Monascus、生物色素、天然着色料、マイコトキシン、バイオリアクタ、有機酸発酵、二次代謝産物、代謝経路、生体内蓄積、ラクトン、エノール、エノン、ケト酸、ジエン、ヒドロキシケトン、ヒドロキシ酸、酸素複素環化合物、脂環式化合物



中鎖脂肪酸の線維状真菌 *Monascus ruber* でのシトリニン生産に影響するについて、グルコース及びグルタミン酸含有培地での標題菌の深部培養によりマイコトキシンのシトリニンと共に生産される水溶性赤色色素、N-グルタリルモノナスコルブラミンの生産について述べた。炭素 13 標識酢酸を用いて産生した標識化色素の NMR 分析の結果、色素合成は発色団構造生成ポリケチド経路及びトランスエステル化により発色団に結合する中鎖脂肪酸(オクタン酸)産生脂肪酸合成経路を用いることが分った。色素産生増大のため 6~8 炭素の脂肪酸を培地に添加したがオクタン酸のみが色素産生を 30~50%増大した。一方、各種中鎖及び長鎖脂肪酸の添加にて、標題真菌は添加脂肪酸を容易に資化したが、8~12 炭素の脂肪酸では相当するメチルケトンの 1 炭素短い色素を培地中に蓄積した。更に、脂肪酸又は相当するメチルケトンの培地中への添加は標題菌によるシトリニン生産を強く抑制するかまたは完全に阻害した。なお、この影響は中鎖脂肪酸又はメチルケトン誘導ペルオキシソームの急増に起因する過酸化水素で新規合成シトリニン又はシトリニン中間代謝物が分解されると推定した。

-----文 献-----

HAJJAJ H, GOMA G, BLANC P J, BARBIER E, FRANCOIS J (Inst. National des Sci. Appliquees de Toulouse, Toulouse, FRA), KLAEBE A (Univ. Paul Sabatier, Toulouse, FRA); *Appl Environ Microbiol*; VOL.66, NO.3 頁 1120 - 1125 (2000)。

KW: 色素, *Monascus*, 脂肪酸, ヘキサース, アミノ酸, 深部培養, 培養条件, 過酸化水素, ペルオキシソーム, ラクトン, エステル交換, 水溶性, 発色団, マイコトキシン, アルドース, 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, エノール, エノン, ケト酸, ジエン, ヒドロキシケトン, ヒドロキシ酸, 酸素複素環化合物, 脂環式化合物

*Monascus ruber* による環境条件の関数としての赤色色素/シトリニン生産生産比率の改良について、種々エアレーション及び攪はん条件下で糸状性標題真菌類の深部培養を行い、増殖及び代謝特性に及ぼす影響を調べた。空気通気量や攪はん速度が増加して酸素供給が増加すると代謝が変化して、バイオマス収量、N 源(グルタミン酸)消費量及び二次代謝産物(赤色色素及びシトリニン)生産量が増加した。このとき、シトリニンが赤色色素と比較して生産性がより増加した。酸素移動係数が低いとき、赤色色素の対シトリニン生産生産比率が高いと結論した。

-----文 献-----

HAJJAJ H, BLANC P J, GROUSSAC E, GOMA G, URIBELARREA J L, LOUBIERE P (INRA, Toulouse, FRA); *Biotechnol Bioeng*; VOL.64, NO.4 頁 497 - 501 (1999)。

KW: 脂環式化合物, *Monascus*, 深部培養, 通気量, 攪はん速度, バイオマス, 容量係数, 生物色素, 赤, 培養条件, マイコトキシン, エノール, エノン, ケト酸, ジエン, ヒドロキシケトン, ヒドロキシ酸, 酸素複素環化合物, 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

#### 4) 生合成系路

<sup>13</sup>C 核磁気共鳴により示す糸状菌 *Monascus ruber* におけるシトリニンの生合成系路につい

て、 $[^{13}\text{C}]$ 酢酸で培養する *M.ruber* 由来の $[^{13}\text{C}]$ シトリニンの炭素同位体分布は該トキシシン生合成が *Penicillium* と *Aspergillus* 種に示されるペンタケチドの代わりに、テトラケチドから生じることを示した。*M.ruber* によるポリケチド赤色素とシトリニンの産生はテトラケチド分岐点のレベルで調節されると考えた。

-----文 献-----

HAJJAJ H, LORET M O, GOMA G, BLANC P J, FRANCOIS J (Inst. National des Sci. Appliquées de Toulouse), KLAEBE A (Univ. Paul Sabatier, Toulouse, FRA); *Appl Environ Microbiol*; VOL.65, NO.1 頁 311 - 314 (1999)。

KW: マイコトキシシン、*Monascus*、生合成、代謝経路、糸状菌類、炭素 13、*Penicillium*、*Aspergillus*、ラクトン、色素、炭素 13NMR、エノール、エノン、ケト酸、ジエン、ヒドロキシケトン、ヒドロキシ酸、酸素複素環化合物、脂環式化合物、脂肪酸

### 5) 代謝物質抽出法

糸状菌類の細胞内と細胞外代謝物質の定量測定に対するサンプル採取法と抽出法の比較について、糸状菌類 *Monascus ruber* からの代謝物質抽出法を比較した。液体窒素における菌糸培養滴下またはメタノール溶液上噴霧法はいずれも代謝中断に効果的であったと述べている。煮沸した緩衝化エタノール(I)による抽出法は代謝物質の分離と安定化に最も適していた。この方法によるとサンプル量が少量ですみ操作も簡便で、抽出後の I 蒸発により代謝物質を濃縮することができた。

-----文 献-----

HAJJAJ H, BLANC P J, GOMA G, FRANCOIS J (Inst. National des Sci. Appliquées, Toulouse, FRA); *FEMS Microbiol Lett*; VOL.164, NO.1 頁 195 - 200 (1998)。

KW: *Monascus*、代謝産物、試料採取、溶媒抽出、定量分析、生体成分分析、二次代謝産物、脂肪族アルコール

### 6) 流加培養法

*Monascus ruber* による赤色素の最適生産のための流加培養法について、標題糸状菌 ATCC96218 の生産する赤、黄、紅色の色素性ポリケチド混合物の生産条件を調べた。炭素源としてのグルコースは菌体生産に好適で、菌体量は 15g/l となった。エタノールは菌体量 7.5g/l と低かったが色素生産は高かった。エタノール流加培養ではさらに色素生産が高くなり 3g/l を示した。赤色素生産の  $\text{O}_2$ 、 $\text{CO}_2$  とエタノール濃度のオンライン測定に基づいて非測定変数を予測する関係式を導いた。エタノールとグルタミン酸ナトリウムを制御することによって流加培養の最適化を計った。

-----文 献-----

SANTERRE A L, BLANC P J (INRA, Toulouse, FRA), QUEINNEC I (Lab. Analyse et d'Architecture des Systèmes, CNRS, Toulouse, FRA); *Bioprocess Eng*; VOL.13, NO.5 頁 245 - 250 (1995)。

KW: *Monascus*、生物色素、発酵制御、流加培養、天然着色料、菌体生産、ラクトン、ヘキソース、アルドース、脂肪族アルコール、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、酸素複素環化合物

## バイオプロセス

*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

## 6. *Monascus rubiginosus*

### 1) グルコアミラーゼ

グルコアミラーゼのグリコ型間のグルコシル化誘発性立体配座相違について、*Monascus rubiginosus* 由来グルコアミラーゼの二つの型(E3 と E4)間の立体配座の相違を、重要なトリプトファン残基の N-ブロモスクシンイミド修飾されやすさの差によって明らかにし、UV 差スペクトルと CD によって確かめた。エンドグリコシダーゼ H で二つの型を処理し、差スペクトルは N-グリコシル化によって起こったことを示した。

### -----文 献-----

ZHANG S, GE S, YANG S, YAN Z, YU H, WANG W (Academia Sinica, Beijing, CHN); *Ann N Y Acad Sci*; VOL.750 頁 344 - 348 (1995)。

KW: *Monascus*, グルコアミラーゼ, 立体配座, 化学修飾, 紫外吸収スペクトル, 円偏光二色性, 差スペクトル, グリコシル化, アミノ酸, 窒素複素環化合物, 芳香族縮合化合物, 臭化物, 脂肪族カルボン酸, ハロゲノアミン, 酸イミド

*Monascus rubiginosus* グルコアミラーゼの立体配座及び性質に対する N-結合少糖類の影

響について、標題菌グルコアミラーゼの主成分、E4(糖含有量:9%)の天然糖型(I)及び N-脱糖鎖型 E' 4(II)を比較して N-糖鎖形成の影響を検討した。エンド-N-アセチルグルコサミニダーゼ H 処理で I の含有糖量の 72%を除去した II は活性に変化を認めなかったが、熱安定性を低下した。II の遠紫外 CD スペクトルは I より高い分子楕円率を示した。I 及び II の  $\alpha$ -ヘリックス含量が各々 14.5 及び 18.9 であったことは II が処理密度の高い立体配座であることを示した。I 及び II のトリプトファン残基に基づく蛍光発光スペクトルは同一(335nm)であったが、II が I に比べて強いことは N-結合少糖類の除去による疎水性中心へのトリプトファンの移動を示唆した。以上の結果はグルコアミラーゼの他の成分でも同一であることを確認した。

-----文 献-----

DONG Z Y, YANG S - J, JIN C, ZHANG S Z (Inst. Microbiology, Acad. Sinica, Beijing, CHN); Ann N Y Acad Sci; VOL.799 頁 193 - 196 (1996)。

KW: グルコアミラーゼ、Monascus、アイソザイム、少糖類、アセチルグルコサミニダーゼ、酵素活性度、熱安定性、円偏光二色性、ヘリックス構造、蛍光スペクトル、立体配座、アミノ酸、窒素複素環化合物、芳香族縮合化合物

第2部 酵素法によるL-アスコルビン酸の分析法の改良  
に関する研究

## I. 総論

### 研究要旨

食品中からの L-アスコルビン酸の分析法には数法があるが、しかし、時間と手数がかかり、測定誤差が生じやすい。

酵素法は、測定結果が不安定で再現性に乏しが L-アスコルビン酸に特異的に反応し、操作が簡単で迅速に出来る利点がある。この酵素測定法を改良することを研究目的とした。酸素や窒素より重いアルゴンガスを反応容器中に封入する事によって、反応容器中の空気中の酸素が反応溶液に溶解し測定誤差を生じることを防ぎ、測定値の再現性が安定して得られた。

本改良法と広く用いられるヒドラジン法とを比較したところ、酵素法が優れていた。加工食品等の 23 品目について、酵素法とヒドラジン法で測定を行ったところ、良好な結果を得、迅速で操作法の簡単な改良酵素法として実用に適する可能性が高いことを明らかにした。一方、加工食品の種類によっては測定値が異なり、食品成分の酵素阻害が認められ、今後課題を残した。

### 研究目的

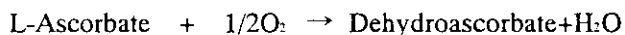
L-アスコルビン酸は、食品中にも存在し、殆どの加工食品に添加されている。

L-アスコルビン酸の測定法は、HPLC 法、インドフェノール・キシレン法、2,4 ジニトロフェニルヒドラジン法(ヒドラジン法)、酸化還元滴定法がある。しかし、これらの分析法では時間と手数がかかる。また、L-アスコルビン酸以外の物質と反応し数値が高くなることもあり、測定値に誤差が生じやすい。したがって、食品衛生法の栄養表示基準では、L-アスコルビン酸の測定許容範囲は、-20%~+80%と誤差範囲を大きく規定している。

その他の測定法としては、L-アスコルビン酸オキシダーゼを使用した酵素法もあるが、しかし測定結果が不安定で再現性に乏しい欠点がある。しかし、酵素法は、L-アスコルビン酸に特異的に反応し、操作が簡単で迅速に出来る利点がある。そこで、この酵素測定法を改良し安定性の向上をはかることを本研究の目的とした。

### 研究方法

酵素法に使用される酵素は、アスコルビン酸オキシダーゼである。アスコルビン酸オキシダーゼは、別名 Ascorbate oxidase と呼ばれる反応は以下示したように



1mol の L-Ascorbate に 1/2mol 分子状酸素が反応し、1mol の Dehydroascorbate と水を生じる。この酵素は、基質に特異的に反応する。

アスコルビン酸の酸化課程で消費される酸素量を、反応液中の溶存酸素の変化として酸素電極で測定する。

## 1) 測定機器

本研究では、測定に使われる酸素電極は、ポーラログラフ式酸素電極（別名ポーラログラフィック式、定電位電解式）を使用した。酵素の反応溶液中の酵素を酸素透過膜を通してポーラログラフ式酸素電極で測定をした。

本研究に使用した酵素は、EC 1.10.3.3L-アスコルビン酸オキシダーゼを用いた。

## 2) 測定法の改良

酵素法の再現性に欠ける原因は、測定中の試料溶液が空气中酸素と接触し、その溶存酸素の影響により測定数値が低下することが大きな原因であると推測した。そこで反応容器の構造上から物理的な密封をする事は困難であるので、空気より重いアルゴンガスを使用し空气中酸素を遮断する方式を採用し検討を行うことにした。

## 3) デヒドロアスコルビン酸の還元

加工食品に添加された L-アスコルビン酸の一部は、酸化されてデヒドロアスコルビン酸となる。添加された L-アスコルビン酸の量を求めるには、デヒドロアスコルビン酸を還元することが必要である。そこで、還元剤としてテトラヒドロホウ酸ナトリウム、グルタチオン、ジチオトレイトールを用いて検討を行なった。

## 4) 添加回収試験

市販の食品に L-アスコルビン酸を添加した、ドールグレープジュース、くだもの好きの 100%ジュース 洋なし、くだもの好きの 100%ジュース 赤りんご 青りんご、スウィートオレンジについて、添加回収試験を行った。

## 5) ヒドラジン法と改良酵素法との比較

広く用いられるヒドラジン法と酵素法とについて添加回収率試験を行い比較した。加工食品等の 23 品目について、改良酵素法とヒドラジン法で測定を行った。

## 6) 加工食品からの分析

加工食品等の 23 品目について、酵素法とヒドラジン法で測定を行った

## 結果・考察

### 1) 測定法の改良

本改良法の効果は、L-アスコルビン酸標準溶液で調べた結果、アルゴンガスを封入する事によって、空气中の溶存酸素がないために酸素消費量が約 10%向上し、再現性が安定して得られた。

### 2) デヒドロアスコルビン酸の還元

改良型酵素法における還元剤としてテトラヒドロホウ酸ナトリウム、グルタチオン、ジチオトレイトールを用いて検討を行なった。その結果、従来から使用されているジチオトレイトールが最も良好な結果を得て、最適の還元剤であった。

### 3) ヒドラジン法と改良酵素法との比較

広く用いられるヒドラジン法と酵素法とについて、水溶液で添加回収率試験を行い比較したところ、酵素法では 101%、ヒドラジン法では 149%であった。標準試験溶液では酵素法が優れていた。

### 4) 添加回収試験

市販の食品に L-アスコルビン酸を添加した改良酵素法の測定値は、ドールグレープジュース、くだもの好きの 100%ジュース 洋なし、くだもの好きの 100%ジュース 赤りんご 青りんご、スウィートオレンジについて、添加実験を行ったところ、40%、67%、78%、108%の回収率で得られ、加工食品によって回収率が異なった。これは、食品中の成分が酵素または L-アスコルビン酸と反応が起こりデータに影響を与えたものと思われた。

### 5) 加工食品からの分析

加工食品等の 23 品目について、酵素法とヒドラジン法で測定を行ったところ、L-アスコルビンは、酵素法が高い値を示した場合が多く、デヒドロアスコルビン酸についてはヒドラジン法で高い値を示した場合が多く、それぞれの値は食品の種類によって異なった。酵素に対する食品成分の影響を解明する必要があることが判明した。また、食品中からの分析には、その食品による添加回収試験を行い補正をする必要を認めた。

以上の研究結果から、本研究の目的である迅速で操作法の簡単な酵素法の安定性を研究し、更に、各食品について添加回収試験等を併用することによって、実用に適する可能性が高いことを明らかにした。

今後の問題としては、酵素法に對しいえることは、L-アスコルビン酸の定量は、よい結果が得られた。しかし、総 L-アスコルビン酸の定量が、正確な値が得られずデヒドロアスコルビン酸の定量ができなかった。しかし、現在、最も多用されるヒドラジン法は 5 時間程かかるのに対し、酵素法は、20 分程ででき、1 回の測定で使用する酵素のコストは、15 円強と安いため、L-アスコルビン酸測定に対して有効である。

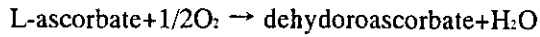
今後に残された問題としては、還元剤の再検討と食中の酵素阻害物質を明らかにし、それに対応した試験法が必要がある。



## II. 各論

### 1.測定原理

酵素法による L-アスコルビン酸の分析は、ASOD (アスコルビン酸オキシダーゼ) は、L-アスコルビン酸に特異的に反応し酸素を消費しデヒドロアスコルビン酸にする。この消費した酸素量を測定することにより L-アスコルビン酸の測定が可能である。



加工食品に添加された L-アスコルビン酸は、一部 DL-アスコルビン酸に酸化されされているために、還元剤を添加しアスコルビン酸 (L-アスコルビン酸) にして酵素を反応させる (図1)。

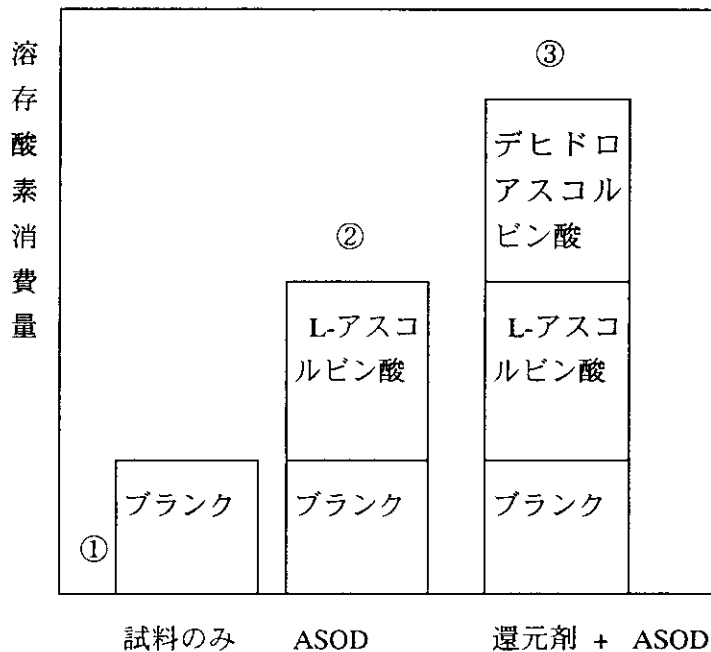
アスコルビン酸は、図-1 のように測定し以下の計算をする事により L-アスコルビン酸、DL-アスコルビン酸の量を知ることができる。

食品中の L-アスコルビン酸量 = ② - ①

食品中のデヒドロアスコルビン酸量 = ③ - ②

食品中のアスコルビン酸量 = ③ - ①

図1. 食品中の L-アスコルビン酸測定の原理



### 2.測定装置

反応セルは、図2に示すガラス製の反応そうを用いた。酸素電極は、ポーラログラフ式酸素電極 (別名ポーラログラフィック式、定電位電解式) を使用した。酸素透過膜は、Porous Membranes M-100 を用いた。反応そうは、恒温水を循環させた (温度誤差 0.1℃以下)。反応そうに試料、緩衝液、試薬をいれ密封し蓋からマイクロシリンジで ASOD を入れマグネチックスターラーで攪拌した。DO METER MODEL TD-650 で測定した信号は Mac

Lab/200 ADInstruments で処理し、コンピュータで記録した。

## 2.1.器具・機器

- |   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| 1) DO METER MODEL TD-650                | TOKO Chemical Laboratorise CO. ,Ltd |
| 2) Mac Lab/200 ADInstruments            |                                     |
| 3) IE STIRRER TS-5                      | TOKO Chemical Laboratorise CO. ,Ltd |
| 4) Porous Membranes M-100               | TOKO Chemical Laboratorise CO. ,Ltd |
| 5) 電解液 OXS-1K                           | TOKO Chemical Laboratorise CO. ,Ltd |
| 6) マイクロシリンジ                             | オーストラリア製                            |
| 7) クッキングタイマー                            | TANITA                              |
| 8) AUTOMATIC MIXER S-100 MFG.NO.3114861 | タイテック株式会社                           |
| 9) LOWTEMP BATH MODEL BU150S            | YAMATO SCIENTIFIC CO. Ltd           |
| 10) UV-3100S                            | SHIMAZU                             |

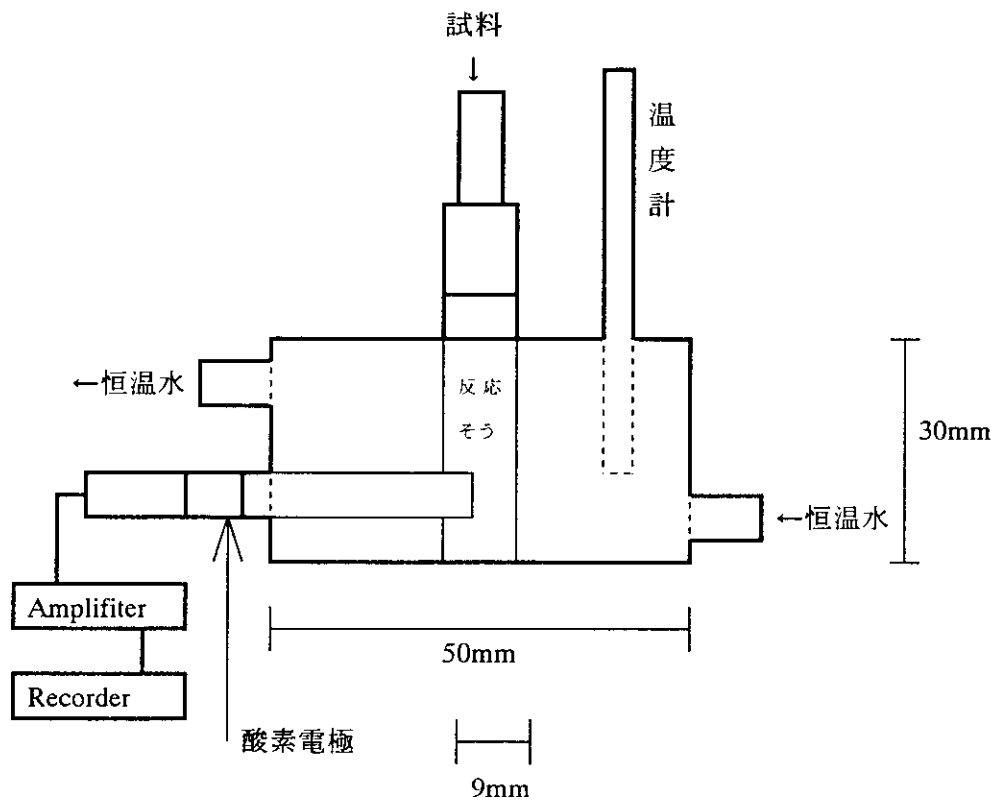


図2. 反応そう

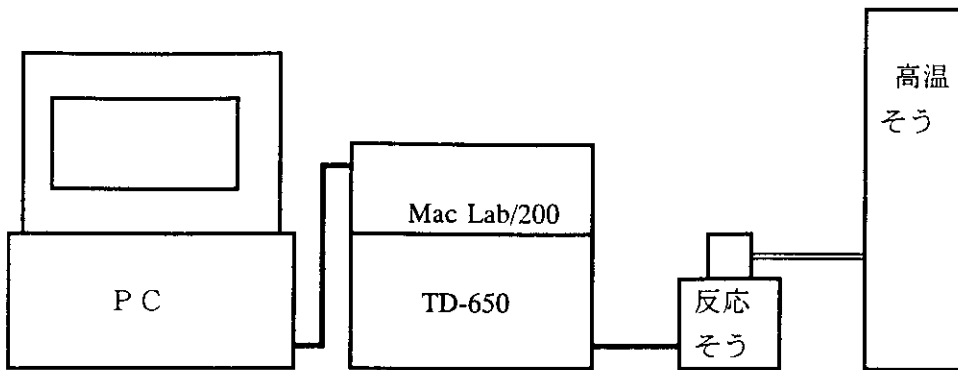


図 3. 測定機器

## 2.2. 試薬・試液調整

### 1. 0.2%メタリン酸溶液

メタリン酸 2g を蒸留水で溶かし全量を 1L にした。

### 2. 2%メタリン酸溶液

メタリン酸 20g を蒸留水で溶かし全量を 1L にした。

### 3. 5%メタリン酸溶液

メタリン酸 50g を蒸留水で溶かし全量を 1L にした。

### 4. 4000U/mL アスコルビン酸オキシダーゼ溶液

2000U 0.5mL 蒸留水に溶解した。

### 5. リン酸緩衝液 (pH7.0)

1/5M リン酸水素ナトリウム 61.0mL、1/5M リン酸二水素ナトリウム 39.0mL に水を加え 200mL にした。

### 6. リン酸緩衝液 (pH8.0)

1/5M リン酸水素ナトリウム 94.7mL、1/5M リン酸二水素ナトリウム 5.3mL に水を加え 200mL にした。

### 7. ジチオトレイトール溶液

ジチオトレイトール 0.0817g 取り、水に溶かし全量を 20mL にし、2 倍希釈した。

### 8. N-エチルマレイミド溶液

N-エチルマレイミド 0.0717g 取り水に溶かし全量を 20mL にし、2 倍希釈した。

### 9. 85%硫酸溶液

97%濃硫酸と蒸留水を 9 : 1 の割合で混合した。

### 10. ヒドラジン溶液

2,4-ジニトロフェニルヒドラジン 2g に硫酸 (7 → 25) 100mL を加え溶かした。

### 11. インドフェノール溶液

2,6-ジニトロインドフェノールナトリウム n 水和物 20mg に水 10mL を加え溶かした。

### 12. 1%塩化第一スズ溶液

塩化第一スズ 1g に 5%メタリン酸溶液を加え 100mL にした。

### 3.酵素反応中の酸素遮断

#### 3.1.研究目的

測定中に試料溶液が空气中酸素と接触し、酸素が溶解し測定数値が低下する可能性があるため、反応器中にアルゴンガスを充填し空气中酸素を遮断し、その効果を調べることにした。

#### 3.2.研究方法

L-アスコルビン酸を 20ppm 有する標準溶液を用いて、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液(4000U/mL)で酵素反応を行い、消費酸素量を求めた。

##### 1) 試薬

- L-アスコルビン酸溶液 (20ppm)
- 0.2%メタリン酸溶液
- アルゴンガス
- アスコルビン酸オキシダーゼ溶液
- リン酸緩衝液 (pH7.0)

##### 2) 測定操作

数値校正は、ガラスの反応さうの周りに 25.0 °Cの水を環流させ恒温させると共に、DOメーターの電源を入れ酸素電極を飽和蒸留水に 1h 浸した後、電極を取り出し、飽和亜硫酸ナトリウム溶液に約 15 分間浸し、ゼロ校正した。電極は、飽和亜硫酸ナトリウム溶液から取り出し蒸留水で丁寧に洗浄後、反応さうにセットした。反応さうに飽和蒸留水とスターラーを入れ数値が安定するまで待ち(約 5 分間)スパン校正をした。以上の操作を 5 回繰り返した。

##### ①空気存在下での消費酸素量の測定

L-アスコルビン酸溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL を反応さうに入れ、スターラーで攪拌を続け、5 分間放置した後、アスコルビン酸オキシダーゼ 1  $\mu$  L を加えて反応を行った。同様の操作をアルゴンガスを加えず 10 回繰り返して測定した。

##### ②アルゴンガス充満下での消費酸素量の測定

L-アスコルビン酸溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL を反応さうに入れ、スターラーで攪拌を続け、十分にアルゴンガスを充満させ、5 分間放置した後、アスコルビン酸オキシダーゼ 1  $\mu$  L を加えて反応を行った。同様の操作を 10 回繰り返して測定した。

#### 3.3.研究結果

溶存酸素計の測定前の数値(酸素濃度)から反応終了時の溶存酸素計の数値を除いて、酵素反応によって消費された酸素濃度を求めた。なお、最大測定値と最小測定値は除いて平均値を求めた。空気存在下での消費酸素量(ppm)とアルゴンガス充満下で