

琉球大学学術リポジトリ

[報文]紅麴菌による黄色色素の生産とその性質の検討

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中西, 久治, 照屋, 隆司, 石川, 達, 照屋, 輝一, NAKANISHI, Hisaharu, TERUYA, Ryuji, ISHIKAWA, Satoshi, TERUYA, Kiichi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016566

紅麴菌による黄色色素の生産とその性質の検討

中西 久治, 照屋 隆司, 石川 達, 照屋 輝一

(株式会社トロピカルテクノセンター研究開発部)

Production and Characterization of Yellow Pigment by *Monascus* sp.

Hisaharu NAKANISHI, Ryuji TERUYA, Satoshi ISHIKAWA, Kiichi TERUYA

Research and Development Department.

Tropical Technology Center Ltd.

5-1 Suzaki Gusikawa, city, Okinawa 904-22

1. はじめに

タール系の合成着色料の発がん性が問題視されているところから、食品添加物として天然色素への消費者のニーズが高まっている。特に微生物起源の色素は発酵法による大量培養によって、需要に応じたその安定供給が可能であるという利点があり、その開発が求められている。

紅麴菌 (*Monascus* 属菌) の天然色素は本県において古くから紅飯、紅ムーチの着色に用いられてきたが、現在では全国的に水産練製品、ジャム、トマトケチャップ、練あん等の着色に広く用いられている。紅麴色素は耐光性が弱いことを除けば、①タンパク質への着色性が良い、②pHによる色調の変化が少ない、③熱に比較的安定であることなど食品色素としての利点がある。しかし、紅麴色素はその赤色色素についての研究がほとんどで、黄色色素についての研究は少ない。また、現在利用されている天然の黄色色素はそのほとんどが植物起源であるため、紅麴菌を用いた微生物起源の黄色色素の発酵生産に関する研究は、その大量安定供給へ貢献するものである。

本研究では43株のTTC保有紅麴菌より選択した黄色色素高生産株を用い、黄色色素生産のための液体培養の検討と、これより生産された

黄色色素の諸性質についての検討を行ったのでここに報告する。

2. 実験方法

1 菌株

TTCの保有する紅麴菌43株のより黄色色素高生産株として選抜した紅麴菌No.16株を用いた。

2 培地

基本培地としてGlucose-Peptone培地(表1)を使用した。

表1 培地組成

基本培地 (Glucose-Peptone培地)	
Glucose	10.0
Peptone	5.0
KH ₂ PO ₄	0.5
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.5
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	0.05 g
Distilled water	1000ml
pH 5.6	

3 培養方法

前培養として、基本培地に寒天を1.5%加えたスラントに試験菌株を接種し、30℃で一週間培養した。本培養は、先の培養スラントに滅菌水を5ml加えた孢子懸濁液を種菌とし、基礎培

*沖縄県具志川市字州崎 5-1

地20ml/100ml振盪フラスコに0.5ml接種し、30℃で5日間振とう培養した。

4 分析および評価法

i) 分析法

培養液のpH：培養液を直接pHメーターで測定した。

菌体生育量：予め105℃で乾燥し、重量を測定したNo. 2の濾紙を用いて培養液から菌体を濾過し、105℃で3時間乾燥する。乾燥後、20分間デシケーター内で放冷後重量を測定し、濾紙の重量を差し引いて菌体量とした。単位は、乾燥菌体重量（DCW）としてg/20mlで表示した。

色素生産量：色素は菌体を除いた培養濾液について測定した。黄色色素生産量はOD₄₀₀の吸光度、赤色色素生産量はOD₆₀₀の吸光度として測定した。吸光度測定時のブランクには同培地を使用した。

ii) 評価法

液体培養による色素生産は、その工業化を考える上で、培養液中の絶対的な色素生産量が高いことが条件である。また、それとともに色素の精製の簡便さを図るために、混合色素中の黄色色素が相対的に高い必要がある。従って、黄色色素生産性の評価は黄色色素生産量（OD₄₀₀の吸光度）と共に、各色素生産量を黄色色素の割合に換算したOD₄₀₀/OD₆₀₀の値が高い場合を色素生産性が高いと評価した。しかし、OD₄₀₀の吸光度の値が1以下の場合には評価の対象外とした。

rhamnoseを用い、濃度は10g/1で試験を行った。その結果、黄色色素量（OD₄₀₀の吸光度）はglucose、maltose、fructoseにおいて高い値を示しており、黄色色素生産にはこの3種の炭素源が有効であった（図1）。特にOD₄₀₀/OD₆₀₀の値ではglucoseが最も高い値を示した（図2）。従って、黄色色素の生産に有効な炭素源としてはglucoseが最適であると判断した。

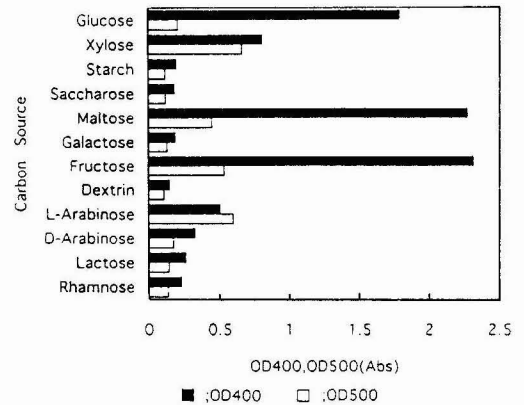


図1 炭素源による影響1

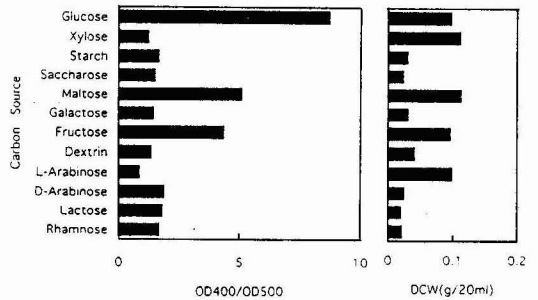


図2 炭素源による影響2

3. 結果及び考察

(1) 培養条件の検討

基本培地を用い黄色色素生産に最も有効な炭素源や窒素源、初発pHを選抜すると共に、微量成分についても検討した。

① 炭素源による影響

炭素源として glucose、xylose、starch、sac charose、maltose、galactose、fructose、dextrin、L-arabinose、D-arabinose、lactose、

次に、glucoseの最適濃度を調べた（図3）。その結果、菌体生育量はglucose濃度の増加に伴い増加傾向を示した。しかし、色素生産を示すOD₄₀₀とOD₄₀₀/OD₆₀₀の値は、始め増加するがある濃度を過ぎると低下しその後ほぼ一定の値を示した。従って、10g/1をglucose最適濃度とした。

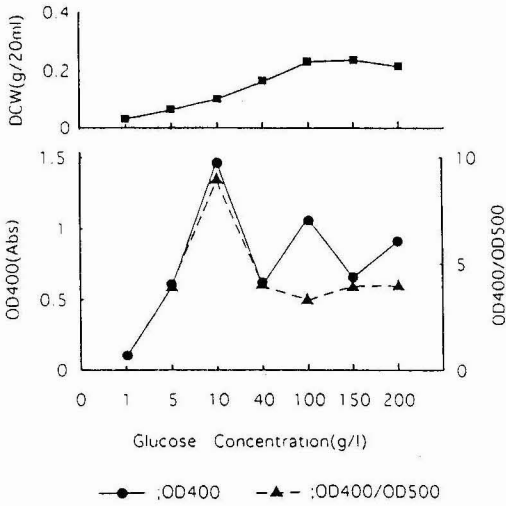


図3 Glucose 濃度による影響

② 窒素源による影響

炭素源として peptone、tryptone、yeast extract、malt extract、beef extract、casamino acid、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 、 NaNO_3 、 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 、 NH_4Cl 、 KNO_3 を用い、上記と同様の方法で試験を行った。その結果、 OD_{400} の値は peptone、tryptone、beef extract、casamino acidにおいて高い値を示した (図4)。 OD_{400}

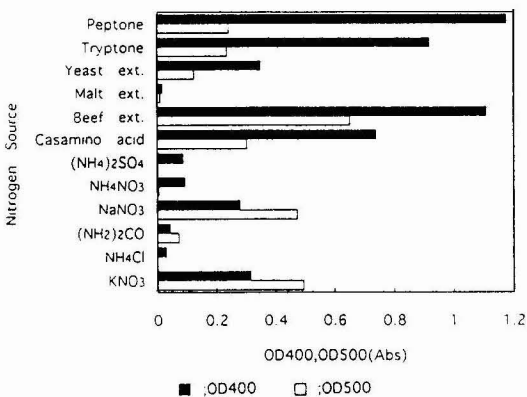


図4 窒素源による影響 1

OD_{500} は、peptoneが OD_{400} と同様に最も高い値を示した (図5)。従って、黄色色素の生産に有効な窒素源としては peptone が最適であ

ると判断した。

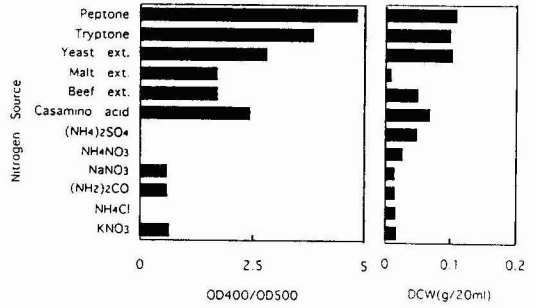


図5 窒素源による影響 2

またその最適濃度を調べた結果、菌体生育量は peptone濃度の増加に伴い増加した。 OD_{400} 、 $\text{OD}_{400}/\text{OD}_{500}$ の値は濃度2.5g/lにおいて最も高い値を示し、その後低下した (図6)。従って、peptoneの最適濃度は2.5g/lとた。

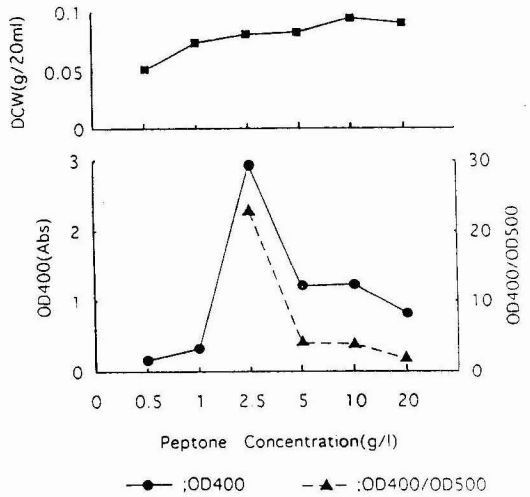


図6 Peptone 濃度による影響

③ 初発pHによる影響

培養初発pHを2.5~8.0の広範囲にとり、黄色色素生産性の影響を調べた。その結果、酸性側のpH 2.5と弱アルカリ性側のpH 8.0では黄色色素の生産性は悪く、pH 5.6付近において最も高い生産性を示した (図7)。従って、培養

初発pHは微酸性領域が最適であると判断した。

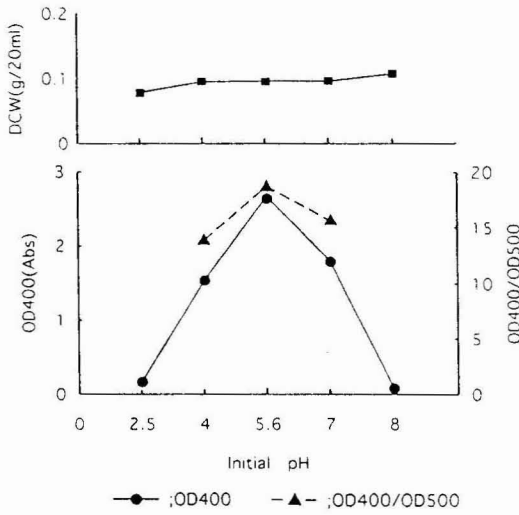


図7 培養初発pHによる影響

④ グルタミン酸添加による効果

上記の結果より得られた培地条件の炭素源 glucose 10g/l、窒素源peptone 2.5g/l、初発pH 5.6 に微量成分としてグルタミン酸を 0.1, 0.5, 1.0, 2.0g/l 添加し、黄色色素の生産性向上の効果を調べた。その結果、グルタミン酸をある程度添加すると、無添加と比較し黄色色素量 (OD₄₀₀の吸光度) は増加するが、一定量加えると低下傾向を示すことが確認できた(図8)。特にグルタミン酸の添加量が0.5g/lの場合、無添加と比較して約2倍程度高い黄色色素生産性を示した。

以上の結果から得られた培地組成を表2に示した。この黄色色素生産培地における色素生産性の培養経時変化を調べた結果(図9)、黄色色素生産性は培養5日目までピークを示し、その後低下することが確認できた。従って、紅麹菌を用いた黄色色素の生産には、表2に示した生産培地を用い、培養日数を5日間とすることが最も良好な培養条件であることが確認できた。

(2) 生産色素の諸性質の検討

上記により生産した紅麹菌の黄色色素を用い、実際食用色素としての利用が可能であることを調

表2 培地組織の比較

培地組成	基本培地 (g/l)	黄色色素生産培地 (g/l)
炭素源	Glucose 10	Glucose 10
窒素源	Peptone 5.0	Peptone 2.5
グルタミン酸		0.5
KH ₂ PO ₄	0.5	0.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5	0.5
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.05	0.05
初発pH	5.6	5.6

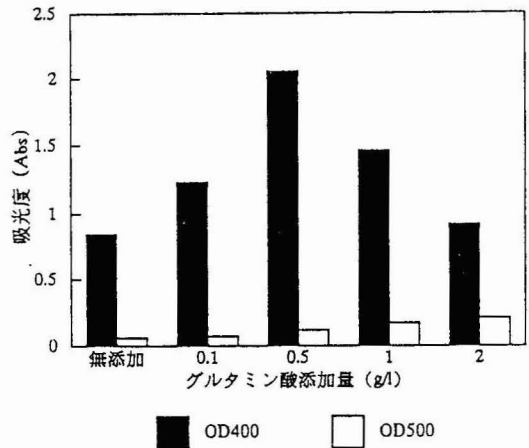


図8 グルタミン酸添加による色素生産

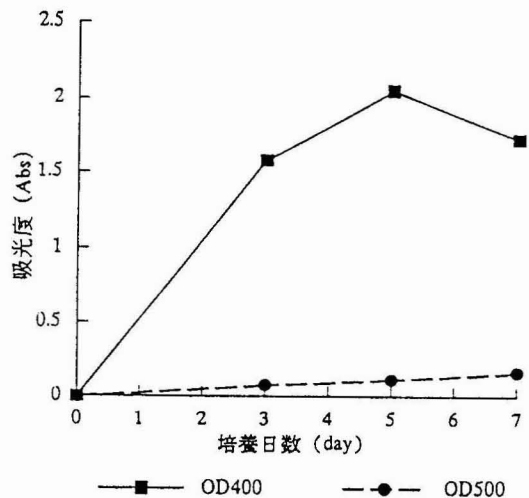


図9 黄色色素生産培地による色素生産の経時変化

べるために、①耐熱性試験、②耐光性試験、③pHによる色調の変化を調べた。試験試料には培養濾液を用いた。耐熱性試験では、試料を30、65、100℃で180分間加熱し、その間の色の変化を経時的に調べた。その結果（図10）、黄色色素量（OD₄₀₀の吸光度）の残存率は各温度ともに180分間ほとんど変化しなかった。耐光性試験では、試料を蛍光灯、UV灯、直射日光下に360分間放置し、その間の色の変化を調べた。その結果（図11）、蛍光灯やUV灯下では色素の残存率は360分間ほとんど変化しないが、直射日光下ではほとんど試験開始直後から退色が始まっていた。pHによる色調の変化は、試料

を水酸化ナトリウムと塩酸でpH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0 に調製し、視覚的に調べた。その結果、pHがアルカリ性側に傾くと、その色調はやや赤みがかかることが確認できた（表3）。

表3 pHによる色調の変化

pH	色 調
3.0	黄 色
5.0	薄黄色
7.0	薄黄色
9.0	薄オレンジ
11.0	薄オレンジ
未処理	薄黄色

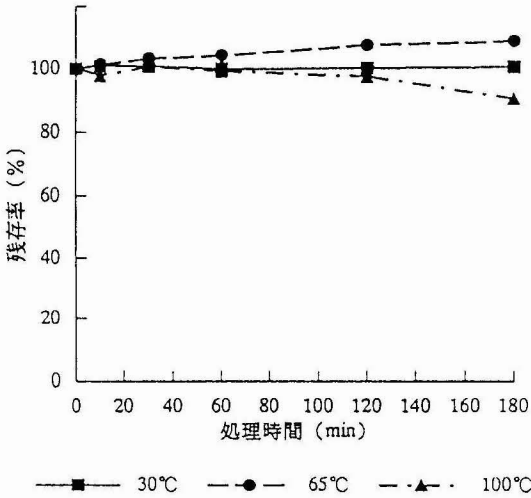


図10 黄色色素の耐熱性試験結果

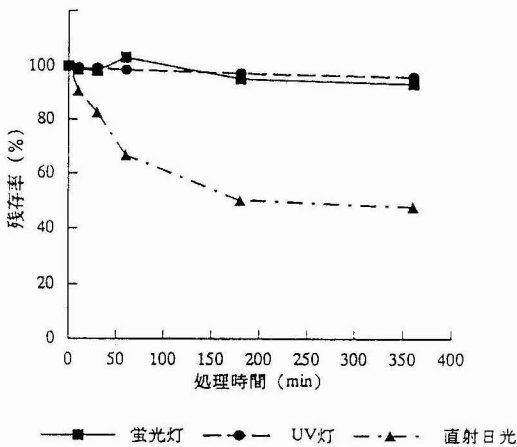


図11 黄色色素の耐熱性試験結果

これらの試験結果より、本研究で生産した黄色色素は一般的紅麴色素（赤色色素）と同様に熱やpHにはほぼ安定であるという利点と、光に対しては弱いことという欠点を確認でき、製品として利用するには光に対する注意が必要であることがわかった。

4. まとめ

食品添加物としての黄色色素の微生物による発酵生産の研究として、TTC保有紅麴菌のうち黄色色素高生産株として選抜した紅麴菌No. 16株を用い、その培養条件の検討を行った。まず、12種類の炭素源を用いての色素生産を調べたところ、黄色色素の生産にはglucoseが最も良く、その最適濃度は10g/lであった。窒素源ではpeptoneが最も良く、その最適濃度は2.5g/lであった。培養初発pHは、微酸性のpH 5.6が最適であった。

さらに黄色色素の生産向上を図るために、微量成分としてグルタミン酸の添加を行った。この結果、上記培地条件にグルタミン酸を0.5g/l添加することにより、その生産量が約2倍向上した。また、この条件での培養日数は5日間が最適であった。

また、本黄色色素の耐熱性試験、耐光性試験、pHによる色調の変化を調べた結果、本黄色色

素は一般的紅麴色素（赤色色素）と同様に熱やpHにはほぼ安定であるが、光に対しては弱いことがわかった。

参考文献

- 1) 谷村 顕雄, 片山 脩, 遠藤 英美, 黒川 和男, 吉積 智司, 1982 : 天然着色料ハンドブック, 449、光琳
- 2) 夕田 光治, 1992 : 月刊フードケミカル, 11, 43
- 3) Tzann F.Lin, Arnold L.Demain, 1991 : Applied Microbiology Biotechnology, 36, 71
- 4) B.Yongsmith, W.Tabloka, W.Yongmanitchai, R.Bavaoda, 1993 : World journal of Microbiology and Biotechnology, 9, 85-90