

## ホエイ固形培地上における紅麴菌の二次代謝産物産生条件の検討

応用生物科学専攻 食資源科学講座 酪農食品科学 大津山 建

### 1. 背景

紅麴菌と呼ばれる糸状菌 *Monascus* 属は古くから豆腐ようや紹興酒などの食用に用いられており、ロバスタチン(別名: モナコリン K)やアノカフラビン, モナシンといった機能性二次代謝産物を生合成することで知られている。その一方で, 紅麴菌は人体に腎中毒性を示すマイコトキシンであるシトリニンも生合成する場合がある。本研究では, この紅麴菌を乳製品製造に応用するために, *M. purpureus*, *M. ruber* および *M. pilosus* の3菌種計9菌株を, ホエイタンパク質を主成分とした固形培地上で培養し, より多くのロバスタチンを生合成し, かつシトリニン生合成のない条件を検討した。また, プロテアーゼ活性の有無を調べることでチーズの風味強化剤としての利用の可能性について検討した。

### 2. 方法

ホエイ溶液を熱変性することで得られる固形培地上(pH 4.0~6.5, 0.5 刻み)に紅麴菌を植菌( $1.3 \times 10^4$ または $1.3 \times 10^5$  spores)し, 25, 30 または 35° C で10 または20 日間培養を行った。ロバスタチンおよびシトリニンの定量については HPLC を, 菌体外に分泌されるプロテアーゼ活性についてはカゼインを基質に用いて検討を行い, さらに培養中の pH 変化を抑制するために乳酸/乳酸ナトリウムの緩衝剤を用いた培養についても検討を行った。

### 3. 結果と考察

供試菌を 25° C で10 日間培養した結果, *M. purpureus* AHU9085, AHU9087, *M. ruber* NBRC9203 および NBRC32318 が赤色を呈し, 培地の pH が低いほど多くの二次代謝産物を産生した。これら4 菌株のうちシトリニン産生が見られず, 高いロバスタチン産生が見られた *M. ruber* の2 株について, 培養温度, 培養期間および播種数の違いがロバスタチン及びプロテアーゼの産生においてどのような影響を与えるか, より詳細な検討を行った。ロバスタチン産生は 30 および 35° C でほとんど見られなくなったが, 培養日数および播種数による影響は少なかった。プロテアーゼ産生については *M. ruber* NBRC32318 を 25° C で10 日間培養した場合においてのみ高い産生が認められた。ロバスタチンおよびプロテアーゼ産生量が特に多かった *M. ruber* NBRC32318 について, さらに pH 緩衝剤添加の影響について検討を行った結果, ロバスタチンの産生量は緩衝剤添加量が4%のとき最大値を示したが, それより高い濃度では低下した。

### 4. 結論

ホエイ固形培地(pH 4.0, pH緩衝剤を4%含む)上で *M. ruber* NBRC32318 の孢子を  $1.3 \times 10^4$  spores 播種し, 25° C で10 日間培養した場合において, 赤色を呈しシトリニンを産生することなく最大量のロバスタチンとプロテアーゼを得られる可能性があることが示唆された。今後はこの条件で培養した紅麴菌をチーズ製造等に応用し, 食品としての評価を行うと共に生体に及ぼす影響について追究を行うことが必要であると考えられる。