

2Ip20 麹菌によるアクリルアミドフリーのコーヒー飲料の開発

○岩井 和也¹, 福永 泰司¹, 成田 優作¹, 中桐 理¹, 坊垣 隆之²,
坪井 宏和², 佐野 元昭³, 尾関 健二³
(¹UCC R&Dセンター, ²大関総研, ³金工大院・工・バイオ化学)
kazuya-iwai@ucc.co.jp

【目的】

これまでに、恒常的にアミダーゼを高生産するセルフクロニング麹菌の育種について報告した。本研究では、アクリルアミド(AA)フリーのコーヒー飲料の開発を目的に、セルフクロニング株のコーヒー抽出液のAA低減効果の確認およびコーヒー抽出液の評価を行った。

【方法・結果】

YPD培地でセルフクロニング株を培養し、菌体を洗浄後、コーヒー抽出液中に添加し菌体内アミダーゼ活性とAA分解活性を評価した。10ppm濃度に調製したコーヒー抽出液のAAは、セルフクロニング株による処理で6時間後には消失した。処理後のコーヒー抽出液に含まれるカフェイン、クロロゲン酸類、有機酸類は、コントロールと比較しやや減少する傾向を示した。GC-MSによる香気成分分析では、処理コーヒーはワインや日本酒などの香気成分である1-プロパノール、酢酸エチル、2-メチル-1-ブタノール、イソブチルアルコール、イソアミルアルコールの濃度がコントロールと比較し著しく増加した。また、訓練パネラーによる官能検査の結果、処理コーヒーは果実様、花様の香りを持つと評価された。

Development of acrylamide-free “ready-to-drink” coffee by *Aspergillus oryzae*.

○Kazuya Iwai¹, Taiji Fukunaga¹, Yusaku Narita¹, Osamu Nakagiri¹,
Takayuki Bogaki², Hirokazu Tsuboi², Motoaki Sano³, Kenji Ozeki³
(¹UCC, ²Gen. Res. Lab., Ozeki Co., ³KIT)

Key words acrylamide, *Aspergillus oryzae*, coffee

2Ip22 麹菌が産生するデフェリフェリクリシンの大量生産技術の確立とその抗酸化作用

○入江 元子, 大浦 新, 戸所 健彦, 福田 克治, 堤 浩子, 秦 洋二
(月桂冠・総研)
irie@gekkeikan.co.jp

【目的】 麹菌 *Aspergillus oryzae* は鉄制限下において鉄イオン獲得のためにデフェリフェリクリシン (Dfcy) を生産する。Dfcy は δ -N-アセチル- β -N-ヒドロキシオルニチン、L-セリン、L-グリシンからなる環状シテロフォアで、3個の鉄イオンと特異的に結合し赤色のフェリクリシン (Fcy) を形成する。Dfcy、Fcyは清酒や味噌等に含まれる食経験が豊富な物質であり高い加工適正を有するが、麹菌による生産量が少なく、工業レベルでの生産や応用検討の対象とならなかった。我々は培養方法の改良や生産菌株の育種によりDfcyの大量生産に成功した。Fcy、Dfcyはその特性から医薬品、食品、化粧品素材など幅広い用途が期待される。今回はDfcyに着目し、その抗酸化作用についての知見を報告する。**【方法および結果】** 麹菌によるDfcy生産性向上には十分な溶存酸素が必要である。そのため、増粘多糖類を加え培地の粘性を高めることで菌体を小さな粒状に誘導し、高い酸素容量移動速度を確保した。また、富栄養で鉄含量の少ない有機窒素源として清酒粕のプロテアーゼ分解物を用いることにした。さらに、醸造用麹菌株からDfcyを高生産する株を選抜し、NTG処理により変異株を取得した。11世代を経る育種を重ねた結果、生産性が著しく向上したF11:74-5株を取得した。得られたDfcyについて生理活性を探索した結果、Dfcyには *in vitro* の系においてラジカル消去能やリノール酸自動酸化抑制効果が認められた。現在、生体内における抗酸化作用を検証している。

The development of mass production technology of Deferriferichrysin produced by *Aspergillus oryzae* and its effects on anti-oxidization

○Motoko Irie, Shin Oura, Takehiko Todokoro, Katsuharu Fukuda, Hiroko Tsutsumi,
Yoji HATA
(Res. Inst., Gekkeikan Sake Co.)

Key words Deferriferichrysin, *Aspergillus oryzae*, mass production, antioxidant

2Ip21 ワイン中の鉄 (“生臭み”) を低減するエタノール処理酵母の細胞内タンパク質の鉄吸着への関与

○辻 俊一¹, 此枝 優希², 金井 圭子¹, 横山 亜紀¹, 田村 隆幸³,
平野 哲², 高田 良二³, 吉田 聡¹
(¹キリンHD・フロンティア技術研, ²キリンGオフィス・品質保証
セ, ³メルシャン・商開研)
Toshikazu_2_Tsuji@kirin.co.jp

目的

魚介類とワインを食べ合わせた時に感じる“生臭み”の原因の1つは、ワインに含まれる数mg/Lの鉄イオンである。我々は、エタノール処理酵母 (ETY) が鉄吸着作用を持ち、ETYを用いて“生臭み”をほとんど感じないワインを製造できることを報告している。今回、効果的な鉄低減法の開発や新たな鉄吸着剤の探索を目的として、ETYの鉄吸着メカニズムの解明を行った。

方法・結果

PI染色でETYと鉄吸着能のない熱処理酵母の膜透過性を比較した結果、ETYの高い膜透過性を確認できた。また、細胞壁消化酵素処理後にエタノール処理した酵母は、酵素処理をしない酵母と比べて鉄吸着能に有意な差がないことから、細胞壁成分は鉄吸着しないことが明らかとなった。次に、鉄溶液浸漬後のETYの断面図を、SEMを用いて観察した結果、細胞内に鉄と推定できる輝点が複数観察され、細胞内に鉄が吸着されていることが示唆された。さらに、ETYをプロテアーゼで処理したところ、鉄吸着能が完全に消失し、タンパク質が鉄吸着に関与する事が強く示唆された。以上より、ETYの鉄吸着は、エタノール処理により細胞膜の透過性が上昇し、細胞内で鉄とタンパク質が結合することによって起こると推定された。本発表では、推定されたメカニズムより新たに見出した酵母由来の鉄吸着剤についても報告する。

Intracellular Proteins of Ethanol-treated Yeast Involved in Iron Adsorption Associated with Fishy Aftertaste in Wine

○Toshikazu Tsuji¹, Yuki Konoeda², Keiko Kanai¹, Aki Yokoyama¹,
Takayuki Tamura³, Satoshi Hirano², Ryoji Takata³, Satoshi Yoshida¹
(¹KIRIN HD, ²KIRIN Group Office, ³Mercian)

Key words iron, ethanol-treated yeast, wine, fishy aftertaste

2Ip23 R(+)- α リポ酸のシクロデキストリンによる包接安定化

○生田 直子^{1,2}, 上梶 友記子², 中田 大介³, 寺尾 啓三³, 松郷 誠一¹
(¹金沢大・院・自然科学, ²(株)シクロケムバイオ, ³(株)シクロケム)
matsugoh@t.kanazawa-u.ac.jp

【目的】 α リポ酸はミトコンドリアにタンパク質に結合した形で存在し、エネルギー産生において重要な補酵素の一つである。 α リポ酸はC6炭素原子にキラル中心を持っており、R(+)-型とS(-)-型の光学異性体が存在するが、生体内ではR(+)- α リポ酸(RALA)のみが生合成されている。一般的な工業製造工程においては光学分割処理を伴わないため、R-体、S-体を等量含むラセミ体が生産される。技術的にはRALAをラセミ体から分離できるが、ラセミ体比べRALAは不安定であるため、RALAを安定に配合した食品の製造は困難であった。そこで本研究では、環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (CD) 包接によるRALAの安定化を目的とし、RALAとCD包接複合体を作製し熱及び酸に対する安定性と溶解性を評価した。

【方法】 RALA-各CD包接複合体を作製し、包接体のSEM観察とRALA含有量の確認を行った後、飽和水蒸気圧下、70℃にて2時間保存後のRALAの含有量をHPLC測定し、RALAの残存率を求めた。また、37℃、pH1.2の水溶液中にて1時間攪拌した後のRALA量、及び、RALA-CD包接複合体を人工胃液に懸濁させ溶解した後のRALAの含有量を測定した。

【結果】 CD包接することによりRALAの熱及び酸に対する安定性が向上することが確認された。また、SEM観察の結果から、RALAと γ CDの包接複合体は特徴的な粒子形状を示すことが明らかになった。人工胃液に対する溶解性はRALAと比較してRALA- γ CD包接複合体では向上することが確認された。

Stabilization of R(+)-alpha lipoic acid by complex formation with cyclodextrins

○Naoko Ikuta^{1,2}, Yukiko Uekaji², Daisuke Nakata³, Keiji Terao³, Seiichi Matsugo¹
(¹Grad. Sch. Nat. Sci. &Tech, Kanazawa Univ., ²CycloChem Bio Co., Ltd,
³CycloChem Co., Ltd)

Key words R(+)-alpha lipoic acid, cyclodextrin, complexation, stability