紅麹菌 *Monascus pilosus* における赤色色素の生産

Production of Red Pigments by *Monascus pilosus*

三宅剛史、張明永*、産本弘之
Tsuyoshi MIYAKE, Ming-Yong ZHANG and Hiroyuki SAMMOTO

キーワード　紅麹菌/赤色色素/生産
KEY WORDS　*Monascus pilosus* /red pigments / production

1　はじめに

紅麹菌は二次代謝産物の一つとして赤色色素を生産し、古くから東南アジアを中心に様々な発酵食品の原料や天然色素として利用されてきた。そして近年の研究により、この赤色色素が抗菌[1)]、抗ガン[2)]、抗酸化[3)]などの生理活性を示すことが明らかにされ始めたことで、改めて赤色色素の生産性が重用視されるようになっている。この赤色色素は、アザフィロン系色素(赤色、黄色、紫色)の混合物であり、構造式が明らかにされている 11 種類の既知成分に加えこれらの各成分がアミノ酸や糖などの付加体として多数存在するなど、その成分構成は多様かつ複雑である。本研究では、比較的赤色色素生産性が低いとされるもののその安全性と嗜好性から日本の紅麹(ないしは赤色色素)製造における使用頻度の高い *Monascus pilosus* による赤色色素の高生産化を目指すことを目的とし、生産に及ぼす培地条件の影響について検討した。

2　方法

2.1　菌株と培養

Monascus pilosus NBRC4520 株を PDA 培地で 30℃、10 日間培養後、0.9% NaCl と 0.2% Tween 80 を含む溶液で胞子懸濁液を調製し、約 10^7 個の胞子を含む懸濁液 0.2ml を 100ml フラスコ中の 25ml の各培地(表 1)にそれぞれ接種し、25℃、21 日間、120rpm で振とう培養を行った。また、必要に応じて GGP 培地の炭素源の種類と濃度および窒素源の濃度を変更して用いた。培養後、菌体と培養液を No. 5C のろ紙(アドバンテック東洋(株))で分離し、菌体の湿重量(g-ww)を測定した。

表 1　使用培地

培地	組成及び名称
PD	Potato dextrose broth
GGP	3% glucose, 7% glycerol, 3.8% peptone, 0.1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2% $NaNO_3$
TSB	Tryptic soy broth
MSG	2% glucose, 0.5% monosodium glutamate(MSG), 0.24% K_2HPO_4, 0.24% KH_2PO_4, 0.05% KCl, 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.001% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.001% $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.0003% $MnSO_4 \cdot H_2O$
CD	Czapek-dox

*独立行政法人日本学術振興会

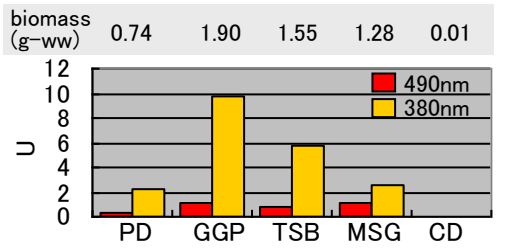
2.2　赤色色素の測定

紅麹菌の生産する赤色色素はアザフィロン系色素(赤色系と黄色系)の混合物である。赤色色素の生産性は、採取した培養液のフィルター(0.45μM)ろ過液を試料とし、赤色系(490nm)と黄色系(380nm)における吸光度(U)で評価した。

3　結果

3.1　培地の種類による赤色色素生産性の違い

先ず始めに、糸状菌の生育に通常用いられるいくつかの培地における赤色色素の生産性を調べたところ、赤色色素の生産は培養基質による影響を受けることが確認された(図 1)。そして、本菌株の生育と赤色色素(特に黄色系)生産のための窒素源にはペプトンが適していると結論し、GGP 培地を基本培地として、以後の赤色色素生産に対する培地成分の影響に関する実験を行った。



	C-source	N-source
PD	2%glu	potato infusion from 200g
GGP*	3%glu-7%gly	3.8%peptone
TSB	0.25%glu	0.3%soyton-1.7%trptone
MSG*	2%glu	0.5%MSG
CD	3%suc	0.3%NO3

＊+minerals

図 1　培地の種類による赤色色素生産性の違い

3.2　窒素源濃度の影響

GGP 培地におけるペプトン濃度の影響について調べたところ、低濃度のときに赤色系の生産が微増

加するものの、黄色系の生産と生育が大きく減少することが判った(図 2)。

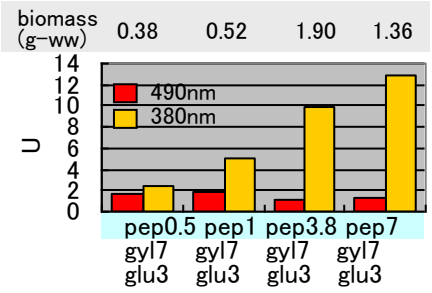


図 2　窒素源(ペプトン)濃度の影響

3.3　炭素源の種類と濃度の影響

次に、生育が最も良かった 3.8%ペプトンを窒素源として、炭素源の種類と濃度の影響について調べたところ、グルコースを単一炭素源としたときの赤色色素の生産はその濃度が 1～7%の間で低いレベルのままで、グルコース利用時に他の代謝が抑えられる現象であるグルコース抑制が見られた。グルコース弱抑制性の炭素源であるマルトースおよびフルクトースのときは 7%の時に最大の生産性を示した。一方、グリセロール単独ではグルコースと比べ微増加にとどまり、ラクトースはほとんど資化されなかった。

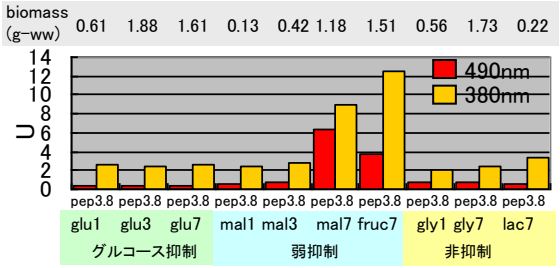


図 3　単一炭素源の種類と濃度の影響

3.4　グリセロールの添加効果

グルコース非抑制性の炭素源グリセロール単独では赤色色素の生産性はほとんど向上しなかった。一方、GGP 培地にはもともとグリセロールが含まれており、高い生産性を示した。このことから、グリセロールを他の炭素源と複合するとより高い生産性を示すことが期待される。そこで、マルトースに対するグリセロールの添加効果について調べてみることにした。その結果、グリセロールの添加により赤色色素の生産がさらに増加することが判った(図 4)。特に、その濃度が低い(1%の)ときに赤色系の生産が大きく増加した。一方、黄色系の生産はグリセロールの添加濃度依存的に増加した。

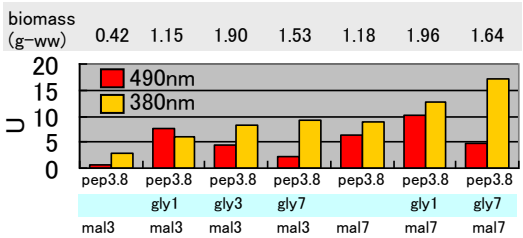


図 4　グリセロールの添加効果

3.5　ペプトン濃度の最適化

ペプトン濃度の減少は赤色系生産の微増加をもたらすものの、同時に生育の極端な低下をもたらし、全体としての赤色系の生産性を下げることにもつながる(図 2 参照)。マルトース-グリセロールを炭素源としたときのペプトン濃度を最適化し、7%マルトース-1%グリセロール-1%ペプトンのとき最大の赤色系の生産(11.9U)を達成した(図 5)。

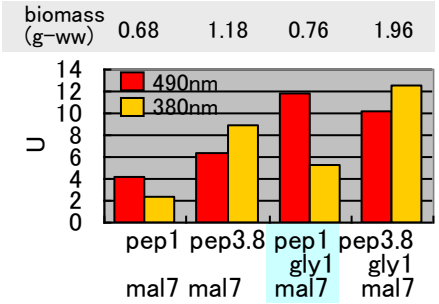


図 5　ペプトン濃度の最適化

4　考察

以上の結果から、赤色系の生産は糸状菌における二次代謝産物の生産調節の特徴(グルコース抑制性で窒素源枯渇や最小限の生育を必要とする)を示すことが判ったが、その調節は比較的緩やかなものであると思われる。一方、黄色系の生産調節はグルコース抑制性を示したもののむしろ生育依存的な特徴を強く示した。同時に、炭素源の選択と濃度、グリセロールの添加濃度、窒素源(ペプトン)濃度などの培養基質をそれぞれ最適化することで、紅麹菌 *Monascus pilosus* が生産する赤色色素の色調の制御が可能であることも意味している。

5　まとめ

紅麹菌 *Monascus pilosus* が生産する赤色色素について、培地条件を最適化することで約 10 倍以上の高生産と色調の制御が可能になった。

参考文献

1)C. Kim et al.: FEMS Microbiol. Lett., 264, 117(2006)
2)T. Akihisa et al.: Chem. Biodivers., 2, 1305 (2005)
3)T. Akihisa et al.: Agric. Food Chem., 53, 562 (2005)