

論文要旨

区分	甲	氏名 山本 佳子
<p data-bbox="204 568 336 607">論文題名</p> <p data-bbox="204 618 1318 703"><i>Enterobacter aerogenes</i> NBRC13534 による黒米アントシアニンの色質変化に関する研究</p> <p data-bbox="204 763 368 801">論文の要旨</p> <p data-bbox="204 813 1433 1182">アントシアニンとは古くから食品に使用されている植物由来の天然色素であり、近年では生体調節機能の報告¹⁾も多数あり、年々需要が高まる一方で、アントシアニンの環境に対する不安定な性質のために用途が限られるのも事実である。また、アントシアニンを含む植物の栽培と色素の精製にも多くの時間と労力を要している。そのため今後は、機能性や色調などの需要に応じたアントシアニンを効率的に供給させることが、必要であると考えている。そこで、本研究では短時間に必要なアントシアニンを合成する技術を確認することを目的に、微生物酵素を利用したアントシアニンの構造修飾について研究を進めている。</p> <p data-bbox="236 1240 863 1279">本報で主には以下の項目について報告する。</p> <ol data-bbox="236 1290 1366 1424" style="list-style-type: none">1. 黒米アントシアニンの色質を変化させる微生物のスクリーニング2. 黒米アントシアニンの色質に及ぼす <i>E. aerogenes</i> NBRC13534 培養液の影響3. 黒米アントシアニンの色質変化に及ぼす有機酸の影響 <p data-bbox="204 1480 1198 1518">1. 黒米アントシアニンの色質を変化させる微生物のスクリーニング</p> <p data-bbox="204 1576 1433 1995">黒米抽出液と 4 種の有機酸（カフェー酸、フェルラ酸、<i>p</i>-ヒドロキシ安息香酸、マロン酸）を添加した PDA 培地を使用し、土壌からのスクリーニングを行った。スクリーニングした微生物を同定した結果、<i>E. aerogenes</i> NBRC13534 と高い相同性が確認された。また、<i>E. aerogenes</i> NBRC13534 も黒米アントシアニンの色質を同様に変化させ、変化した色素は、黒米アントシアニンの極大吸収値である 520 nm から 500 nm シフトした。変色した培地の色素を HPLC で分離した結果、黒米アントシアニンには見られない新規の 4 つのピークが確認された。更に、その新たな 4 つのピークを分取し、連続吸光度を測定したところ、4 つの内 2 つのピークは 500 nm において極大吸収値を示した。</p> <p data-bbox="236 2007 1433 2045">更に 500 nm に極大吸収値を持つ 2 つのピークを酸加水分解し、アントシアニンの</p>		

基本骨格であるアントシアニンを HPLC で比較した。結果、黒米アントシアニンの主であるシアニジンとは異なる保持時間で有り、更にマルビジン、ペオニジンの保持時間とも異なった。このため、新たに確認されたピークは、シアニジン、マルビジン、ペオニジン以外を基本骨格とする色素である可能性が示唆された。

2. 黒米アントシアニンの色質に及ぼす *E. aerogenes* NBRC13534 培養液の影響

黒米抽出液に 4 種の有機酸（カフェー酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、マロン酸）を各々添加し、*E. aerogenes* NBRC13534 培養液と混合し、37°C で 2 日間培養した。培養後、培養液の連続吸光度を測定した結果、4 種の有機酸の内、カフェー酸とフェルラ酸が黒米アントシアニンの色質を変化させることが確認された。また、培養液の反応 0 日目、1 日目、2 日目の極大吸収値を各々調べたところ、カフェー酸は 1 日ごとに 520 nm から 500 nm に 10 nm ずつにシフトし、フェルラ酸は 1 日目で 520 nm から 510 nm にシフトすることが確認された。

更に *E. aerogenes* NBRC13534 培養液を透析し、透析膜内の培養液と黒米アントシアニンを混合させたところ、黒米アントシアニンの極大吸収値が 520 nm から 510 nm にシフトした。これらのことから、黒米アントシアニンを変化させる物質は分子量 10000 以上の物質で、*E. aerogenes* NBRC13534 の菌体遊離型の酵素である可能性が示唆された。

3. 黒米アントシアニンの色質変化に及ぼす有機酸の影響

黒米抽出液 100 ml、各種有機酸（カフェー酸、フェルラ酸、*p*-クマル酸、シナピン酸、ピロカテコール）各々 0.01 g を含む NBRC No. 802 培地（*E. aerogenes* NBRC13534 の最適液体培地）を調製した。各培地は 5 分間湯せんをした後、十分に冷まし、*E. aerogenes* NBRC13534 を植菌した。37°C、2 日間で振とう培養し、極大吸収値を測定した。*E. aerogenes* NBRC13534 を培養していない培地の極大吸収値は、全て黒米アントシアニンと同じ 520 nm を示した。一方、*E. aerogenes* NBRC13534 を培養した培地では、*p*-クマル酸添加培地で 500 nm、カフェー酸、フェルラ酸添加培地は 510 nm において極大吸収値を示した。また、有機酸無添加、シナピン酸および、ピロカテコールを添加した培地は黒米アントシアニンと同じ 520 nm の極大吸収値を示した。*p*-クマル酸、カフェー酸、およびフェルラ酸は構造が類似しており、このことから、黒米アントシアニンの色質変化には、有機酸の構造に関係することが示唆された。

参考文献

- 1) 大庭 理一郎, 五十嵐 喜治, 津久井 亜喜夫 (2000). アントシアニン. 建帛社,