

研 究 報 文

紅 色 酵 母 の 成 分 研 究

— 色 素 成 分 に つ い て —

布 浦 弘* 金 築 孝 江**

Studies on the Components of Red Yeast

Hiroshi Nunoura, Takae Kanetsuki

酵母は菌類植物門中の子囊菌類に属する有孢子酵母類と、不完全菌類に属する無孢子酵母類と、担子菌類に属すると考えられる射出酵母類に大別される。ふつう球形または楕円形の単細胞であり、直径5~10 μ ぐらいである。肉眼では見ることはできないが、細菌にくらべて数倍の大きさである。この中の無孢子酵母類は、一般にアルコール発酵力が弱く醸造工業で利用されるものはほとんどないが、安価な糖質原料で良く繁殖するトルラ酵母や、炭化水素を炭素源として良く発酵するキャンディ酵母は、飼料用タンパク質源として大量培養が進められている。

Rhodotorula 属の著しい特徴のひとつは、カロチノイド色素を生産することであり、Rhodotorula rubra は赤色色素、Rhodotorula bronchialis はかつ色色素、Rhodotorula flava は黄色色素を生産する^{1),2)}。

カロチノイド色素は細菌、糸状菌、藻類、原生動物そして高等動植物にいたるまで広く分布している黄色、だいたい色ないし紅色の脂溶性色素であり、その中で α -、 β -、 γ -カロチンおよびクリプトキサンチンなどは動物体内で変化してビタミンA効果を示すプロビタミンAとして知られている。構造はポリエン色素に類似し、天然カロチノイド色素にあつては、炭素連鎖の両端にイオン核あるいはカルボキシル基を結合している。炭素連鎖は分岐して4個おき、あるいは3個おきにメチル基が炭素についている。カロチノイド色素生成のはじめの段階では、無色の Phytoene であつて、それが酸化されて次第に共役二重結合の多い有

色カロチノイド色素に変化することが、トマトやRhodospirillum やアカパンカビについて証明されていて、カロチノイド生成の過程は推定されているが、まだ十分の確証がえられていない^{3),4),5)}。

Rhodotorula 属が他の酵母と異なりカロチノイド色素を生産するという点に興味を持ったので、上記のカロチノイド生成の過程を推定のもとに Rhodotorula rubra の色素について検討した。ただし本報告においては、石油ベンジンおよび90%メタノール水溶液との分配試験において上層性を示す色素についてのみその種類、性質をしらべたのでその結果を報告する。

実 験 お よ び 結 果

試料 試料の Rhodotorula rubra は1974年鐘淵化学工業株式会社で培養されたもので、熱風乾燥後粉末状に処理されていた。その水分含量は2.98%であった。

色素の抽出および分離 色素の抽出はアセトンおよび石油ベンゼンを用いて行ない、Figure 1 に示した方法に従って精製した。

色素の確認法

- 核磁気共鳴分光法 Figure 1 に示した方法で精製した不ケン化物および物質Pの結晶約1mgをクロロホルム5 mlに溶かし、日本電子株式会社製JNM—MH—100型によって測定した。化学シフトはテトラメチルシランを基準にした。
- 赤外分光法 Figure 1 に示した方法で精製した不ケン化物については、試料1mgを1 mlの石油ベンゼン溶液となし、これをNaCl板上に滴下し、

* 本学食品化学研究室

** 49年度卒業生

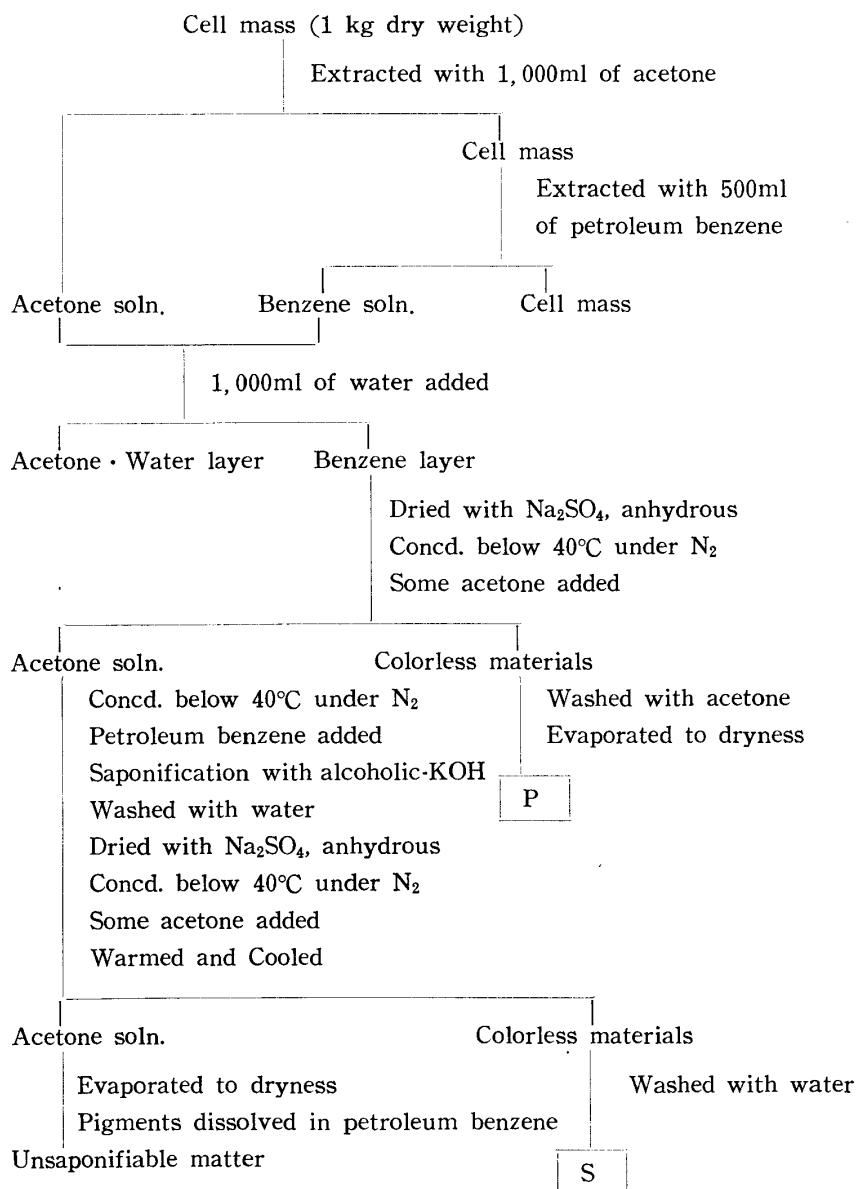


Fig. 1 Extraction and purification of the pigments produced by *Rhodotorula rubra*.

溶媒を蒸発させて薄膜を作成した。物質Pについては、結晶約1mgを100倍のKBr粉末と充分混和後、微粉碎して錠剤成型器に入れ、数mmHgの真空下で、200kg/cm²の圧力をかけて5分間加圧して透明な錠剤を作成した。それらを日本分光光業株式会社製IRA-1型回折格子赤外分光光度計によって測定した。

c) 色素のカラムクロマトグラフィー Figure 1に示した方法で精製した不ケン化物を石油ベンゼンに転溶し、活性アルミナ(Merk製)を充てんした管(2×20cm)を通した。溶出方法はTable 1に示した。

Table 1. Chromatographic separation of the pigments produced by *Rhodotorula rubra*.

Absorbent	Alumina, activated
Fraction No.	
1	Eluted with PB
2	Eluted with PB : Acetone (1 : 1)
3	Eluted with Acetone : Methanol (1 : 1)

d) 可視部吸収スペクトル法 色素のカラムクロマトグラフィーによって溶離した各Fractionは、黄色系、紅色系、褐色系と識別できたので、島津製作所SV-50A型 Automatic Recording Spectrophotometerによって測定した。

実験結果および考察

a) 色素について

核磁気共鳴分光法で得られた結果は、 δ 値 5.2 にアルケンのプロトンの吸収、 δ 値 0.6~1.8 にアルカンのメチル基およびメチレン基のプロトンの吸収が認められた。

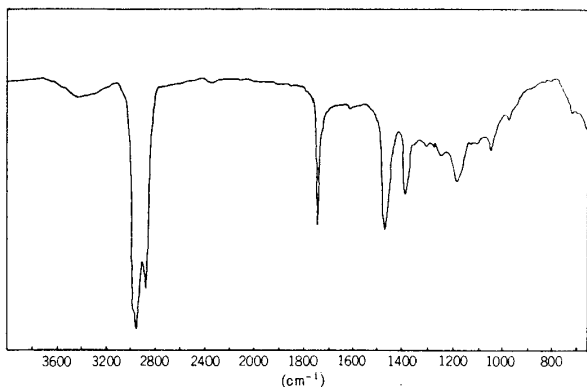


Fig. 2 Infra-red spectrum of the pigments of produced by *Rhodotorula rubra* (NaCl).

赤外分光法の結果は Figure 2 に示すごとく、 $2,800 \sim 3,000 \text{ cm}^{-1}$ にアルカンの C-H 伸縮振動、 $1,460 \text{ cm}^{-1}$ にメチレン基の C-H 変角振動、 $1,750 \text{ cm}^{-1}$ にアルケンの C=C 伸縮振動の吸収が認められた。以上の結果より、色素はカロチノイド系に属する脂環式炭化水素と認められる。

カラムクロマトグラフィーの結果は、黄色の Fraction 1, 紅色の Fraction 2 および褐色の Fraction 3 に分けられた。これらの可視吸収スペクトルを Figure 3 に、また各 Fraction の吸収極大を Table 2 に示した。

Table 2. Comparison of absorption maxima of the pigments produced by *Rhodotorula rubra* and β -carotene

Pigment	Absorption	maxima in n-hexane (nm)	
Fr. 1	423	448	475
Fr. 2	375	445	474
Fr. 3	382	488	508
β -Carotene	423	448	475

Fraction 1 は β -カロチンと吸収極大が一致し、アルミナに対する吸着状態もよく一致するため β -カロチンであると考えられる。Fraction 2 は 375, 445, 474 nm に吸収極大をもつカロチノイドであるがアルミナに対する吸着状態より判断すると OH などの極性基をもつアスタキサンチンに類似したものであることも考えられる。Fraction 3 は 382, 488, 508 nm に吸収極大をもつカロチノイ

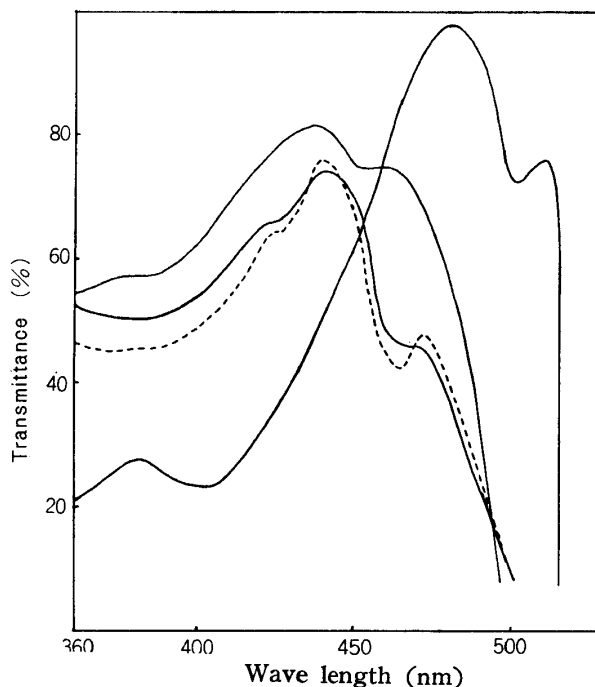


Fig. 3 Absorption spectra of the pigments produced by *Rhodotorula rubra* (in n-hexane).

ドであるが、メタノールで溶出することからカロチンよりもむしろキサントフィル類であると推定される。

b) 物質 P について

核磁気共鳴分光法で得られた結果は、 δ 値 5.3, 4.1 にアルケンのプロトンの吸収、 δ 値 2.2 にメチレンのプロトンの吸収、 δ 値 1.3 に脂環式プロトンおよびアルカン、アルケンのメチレン基のプロトンの吸収、 δ 値 0.9 にメチル基のプロトンの吸収が認められた。

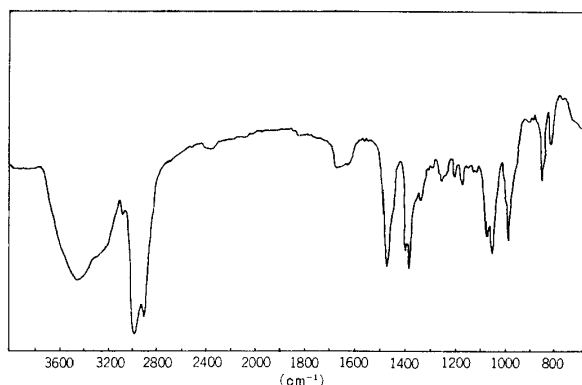


Fig. 4 Infra-red spectrum of the fluorescent substance produced by *Rhodotorula rubra* (KBr).

赤外分光法の結果は Figure 4 に示すごとく、 $2,900 \sim 3,000 \text{ cm}^{-1}$ にアルカンの C-H 伸縮振動、 $1,480 \text{ cm}^{-1}$ にメチレン基の C-H 変角振動、 $1,650 \text{ cm}^{-1}$ にアルケンの C=C 伸縮振動が認められた。

さらに $1,650\text{cm}^{-1}$, $3,080\text{cm}^{-1}$ に小さいが明らかにアルケンのC-H伸縮振動の吸収が認められた。

以上の結果および物質Pは蛍光性を有し、その融点が 140°C であったことより、物質Pは炭素と水素からなる Photofluene と推定した。

考 察

Rhodotorula rubra をアセトン処理し、分離、精製して得られた蛍光性物質は、核磁気共鳴分光法、赤外分光法、融点測定の結果 Photofluene ($\text{C}_{40}\text{H}_{64}$ または $\text{C}_{40}\text{H}_{68}$) と推定されたが、酵母培養の初期においては、相当多量の結晶が得られたが、培養技術の進歩にともなう、得られた結晶は漸減し、後期においてはほとんど結晶を得ることができなかつた。この事実は、はじめに述べたが、カロチノイド色素生成のはじめの段階では、無色の Phytoene であって、それが酸化されて次第に共役二重結合の多い有色カロチノイド色素に変化するというカロチノイド生合成の過程を示唆するようで、生化学の上からみておもしろいと思われる。

また、*Rhodotorula rubra* をアセトン処理し、さらに不ケン化物を処理した際に、多量のステロイド状物質Sが得られた。この物質が不ケン化物中に混在することによって、色素の単離は非常に困難であったが、この物質については次報以後で述べる予定である。

要 約

Rhodotorula rubra の生産するカロチノイドは β -

カロチンなど3種であることが分つた。

なお、本酵母は有色のカロチノイド色素のみならず、物色の蛍光性物質、Photofluene と推定される物質も生産する。しかしこの物質は培養条件等の変化によって、生産される量に大きな変動があることが分つた。

この研究の一部は昭和49年度京都女子大学研究助成金による援助を受けたものである。

文 献

- 1) A. C. Chapman : *Biochem. J.* , **10**, 548 (1916)
- 2) E. Lederer : *Bull. Soc. Chim. Biol*, **20**, 611 (1938)
- 3) 田中正三 : 本誌, **23**, (1969)
- 4) E. C. Grob, R. Bather : *Helv. Chim. Acta*, **39**, 1975 (1956)
F. Haxo : *Arch. Biochem. Biophys.* , **88**, 180 (1960)
- 5) G. Suzue, S. Tanaka : *S. Science*, **129**, 1359 (1959)
G. Suzue : *Arch. Biochem. Biophys.* , **88**, 180 (1960)
- 6) 実験化学講座, **22**, 28
生物学実験法講座, **6**, 17
服部静夫 : 生体色素