

麹菌 *Aspergillus oryzae* 菌糸体のアクリルアミド分解特性

若泉 賢功*・山元 宏貴・安田 直子・尾関 健二

金沢工業大学ゲノム生物工学研究所

(2009年7月23日受付 2009年9月1日受理)

Acrylamide Degradation Characteristic of *Aspergillus oryzae* Mycelia —Note—

Masanori Wakaizumi*, Hirotaka Yamamoto, Naoko Yasuda, and Kenji Ozeki (Genome Biotechnology Laboratory, Kanazawa Institute of Technology, 3-1 Yatsukaho, Hakusan, Ishikawa 924-0838) Seibutsu-kogaku **87**: 490–495, 2009.

In this study, we determined the optimal culture conditions for the degradation of acrylamide (AA) by *Aspergillus oryzae* mycelia. We examined the culture conditions for induction of AA degradation (incubation time, AA concentration, pH and the amount of mycelia) and the effect of the strain of *A. oryzae* on AA degradation. AA degradation was enhanced when *A. oryzae* RIB40 was cultured in modified Czapek-Dox medium (sucrose- and NaNO_3 -deficient) maintained at pH 7.5 and supplemented with 200 $\mu\text{g/ml}$ AA. The optimal amount of mycelia was 1.3 g/30 ml. The rate of AA degradation by *A. oryzae* KBN1010 and *A. oryzae* No. 100 exceeded that by *A. oryzae* RIB40. These two strains degraded nearly all of AA in a 200 $\mu\text{g/ml}$ AA solution at 8 h. Furthermore, when these two strains were incubated for 24 h in a roasted green tea infusion containing 39.1 ± 2.9 ng/ml AA, the AA concentration in the case of degradation by both strains was below the detection limit.

[**Key words**: *Aspergillus oryzae*, acrylamide, degradation, mycelia, roasted green tea]

アクリルアミド（以下AAと記す）は、主にポリアクリルアミドの製造原料となる化合物であるが、神経毒性や発がん性が報告され¹⁻³⁾、国際がん研究機関（IARC）は「ヒトに対して恐らく発がん性がある物質（2A）」に分類している⁴⁾。このAAが日常摂取する食品や飲料から検出されたことから⁵⁾、世界食糧機構（FAO）/世界保健機構（WHO）の合同専門者会議では、AA摂取量を減らすために食品中のAA濃度を低減する必要性が示された⁶⁾。そのため、世界中の研究者が低減方法を研究してきた。たとえば、フレンチフライなどの炭水化物を多く含む加工食品では、加熱加工前の原料中のアスパラギンをアスパラギナーゼによってアスパラギン酸に変換することで、加熱加工によるAA生成が大幅に抑制されることが報告されている⁷⁾。しかし、アスパラギナーゼは日本で

は既存添加物名簿収載品目リストには記載がなく食品には使用できないのが現状であり、コーヒーやほうじ茶などでは焙煎前に酵素反応を行うことは困難である。また、AA分解方法として、オゾンや過マンガン酸による処理が報告されているが^{8,9)}、これらを食品で用いた場合、AA以外の栄養成分や風味へ多大な影響を及ぼすことから使用は困難である。ゆえに、食品成分への影響がなく、安全で安価なAA低減方法の研究は引き続き必要である。

著者らは、これまでの研究で、麹菌 *Aspergillus oryzae* は栄養培地で培養した際にはAA分解能をほとんど示さないが、炭素源および窒素源を制限した最少培地では、添加したAA濃度の減少がみられ、培地からはアクリル酸が検出されることがわかってきた¹⁰⁾。この結果から、*A. oryzae* は栄養制限下ではamidaseの産生量が増加し、AA

*連絡先 〒924-0838 石川県白山市八東穂3-1

TEL. 076-274-7944 FAX. 076-274-7511 E-mail: m.wakaizumi@gmail.com

をアクリル酸とアンモニアに分解することが推察された。また、AAを唯一の窒素源とした最少培地を用いて食品工業用*A. oryzae* 実用株（分生子）のAA分解能を調査した結果、高分解能を示す菌株が存在し、さらに、高分解株（分生子）をほうじ茶浸出液に加えてAA分解実験を行うと、添加したAA濃度の減少がみられ、その際、ほうじ茶独特の香りや色調に明らかな変化はみられなかった¹⁰⁾。しかし、*A. oryzae*のAA分解特性の研究を進める過程で、分生子を栄養（液体）培地で培養することで形成する球状の菌糸塊（以下菌糸体と記す）を、AAのみを炭素源とした最少培地（Czapek-Dox 液体培地）で培養することによって、AA分解能が顕著に向上する知見を得た。

そこで本研究では、まず*A. oryzae* 菌糸体のAA分解能の向上に適した培養条件を調査するため、*A. oryzae* RIB40株を用いてAA分解能への誘導培養時間、AA添加濃度、pH、および使用する菌糸体量の影響を検討した。次に最適培養条件で*A. oryzae* 4株を培養し、AA分解能を比較検討した。さらに食品中のAAに対する低減効果を検証するため、高分解株2株を使用して、ほうじ茶浸出液中のAAに対する分解実験を行った。

A. oryzae RIB40株は酒類総合研究所、*A. oryzae* KBN 1010株はビオック社、*A. oryzae* No.100株および*A. oryzae* M-01株は樋口松之助商店から分与された株を使用した。AA、Xanthidrol（10% methanol）は東京化成工業社製、Triton-X100はMP Biomedicals社製、その他の試薬は和光純薬工業社製を使用した。なおAA重水素（AA-D3）は水質検査用、メタノール、ヘキサン、酢酸エチルは残留農薬実験用（1000以上）、塩酸は有機金属測定用を使用した。Potato Dextrose Agar（PDA）培地、Potato Dextrose Broth（PDB）培地はDifco社製を使用した。PDA培地は、PDA培地（Difco社製）39.0 gを蒸留水1 lに溶解して作製した。PDB培地は、PDB培地（Difco社製）24.0 gを蒸留水1 lに溶解して作製した。改変Czapek-Dox（CD）培地は、MgSO₄・7H₂O 0.50 g、KCl 0.50 g、K₂HPO₄ 0.10 g、FeSO₄・7H₂O 0.01 gを蒸留水に1 lに溶解してpHを0.1N-NaOHで調整して作製した。すべての培地は常法に従い、121°C 15分間オートクレーブ殺菌して使用した。AAは水溶液として0.22 μm フィルターでろ過滅菌した後、培地に添加した。

本稿では、分生子を栄養（PDB）培地で培養することを「前培養」、前培養後の菌糸体を改変CD培地で培養することを「誘導培養」と記した。実験手順は以下のとおりである。まず、供試菌体をPDA培地で30°C 7日間静地培養した後、0.01%（v/v）-TritonX-100含有滅菌水によって分生子を分散させ、分生子懸濁液を調製した。分生子密度はトーマの血球計算盤により検鏡して測定した。次

に、この分生子懸濁液をPDB培地に植菌し、30°Cで64時間前培養した（120 rpm）。その後、形成した菌糸体をガラスフィルター（3G-1）で回収し、培地の3倍量の滅菌水で洗浄し、湿重量を測定し、各種培地条件で誘導培養を行った後、AA分解実験に供した。AA分解実験は、200 μg/ml-AA水溶液30 mlを100 mlバッフル付フラスコに計り、菌糸体を入れ、30°Cで振盪（120 rpm）し、開始時、4、8時間目に1.5 mlを採取し、AA濃度を測定した。AA分解率は、培地の濃度減少量を百分比で示した。すなわち培地への添加濃度（A）と分解実験の培地の濃度（B）から、次式によって算出した。

$$\text{AA分解率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

ほうじ茶浸出液でのAA分解実験には、2008年11月に兵庫県内のスーパーで購入したほうじ茶を使用した。水上らの方法¹¹⁾により、茶葉15 gを1 lビーカーに計量し、90°Cのお湯650 mlを加え30秒間放置し、ステンレス製篩（メッシュサイズ125 μm²）でろ過して浸出液を得た。この浸出液150 mlを500 mlバッフル付フラスコに計り入れ、菌糸体を添加し、30°Cで振盪（120 rpm）し、開始時、8、24時間目に20 mlを採取し、AA濃度を測定した。

AAの同定および定量は、HPLCもしくはGC-MSを使用した方法¹²⁾を改変して行った。測定限界濃度はHPLCで0.5 μg/ml、GC-MSで0.1 ng/mlであった。HPLC分析では、採取した検体を0.45 μm フィルターでろ過してHPLCで定量した。HPLCは島津製作所社製LC-2010AHT HPLCシステム、カラムは資生堂社製CAPCELL PAK C8（type SG120, 5 μm, 4.6 mm I.D.×250 mm）、移動層は0.1%（v/v）-リン酸水溶液、測定条件は、カラム温度：40°C、検出波長：200 nm、送液速度：1 ml/分である。GC-MS分析は、プレカラムとしてC18カートリッジカラムを取りつけた活性炭カートリッジカラムに検体を通水吸着後、メタノールで溶出させ、次に溶出液を濃縮後、Xanthidrolを加えて誘導体化し、酢酸エチルで抽出し、脱水後、GC-MS-SIMで定量した。さらに詳しくは、ほうじ茶浸出液20 mlに精製水80 mlと1 μg/ml-AA-D3溶液1 mlを添加し、攪拌後、40 mlをプレカラムとしてC18カートリッジカラム（ウォーターズ社製セブパックプラスC18 充填剤量360 mg、使用前にメタノール20 ml、蒸留水40 mlの順でコンディショニング）を取り付けた活性炭カートリッジ（ウォーターズ社製セブパックAC-2 充填剤量400 mg、使用前に蒸留水40 mlでコンディショニング）に、流速5 ml/分程度で通過させた。通気して脱水した後、活性炭カートリッジを取り出し、メタノール5 mlを流速約5 ml/分で通過させてAAを溶出させた。この溶出液を10 ml 共栓付試験管に入れ、5%（v/v）-エチレングリコール/メタノール溶液0.1 mlを添加し、エバポレータで乾固

させた。この試験管に Xanthidrol (10%-methanol) 溶液 50 μ l, 0.3 mol/l-塩酸/メタノール溶液 100 μ lを加えて密栓し、よく攪拌した。この試験管を40°C恒温水槽中に入れ、時々振り混ぜながら、2時間放置した。誘導体化終了後、エバポレータで乾固させた。蒸留水5 ml, 塩化ナトリウム適量、酢酸エチル2 mlの順に加えて抽出を行った。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、測定検体液とした。GC-MSは日本電子社製卓上型 GC-QMS JMS-K9, カラムはJ&W Scientific 社製 DB-5ms (0.25 mm $\times$ 30 m, 膜厚0.25 μ m), 測定条件は、注入法: スプリットレス, 温度: 試料注入口250°C, カラム40°C 2分間保持後, 20°C/分で300°Cまで昇温, イオン源: 230°C, イオン化電圧: 70eV, イオン化: EI, 設定質量数: AA 251, 234, AA-D3 254, 210である。

はじめに, *A. oryzae* 菌糸体のAA分解能の向上に適した培養条件を調査するため, *A. oryzae* RIB40株を用いてAA分解能への誘導培養時間, AA添加濃度, pH, および使用する菌糸体量の影響を検討した。まず, 誘導培養時間の影響を調査するため, 前培養した菌糸体 1.3 ± 0.2 g (湿重量)をAA添加改変CD培地 (AA濃度 1600 μ g/ml, pH 4.0) に入れ, 30°Cで12, 24, 48, 72, 96時間誘導培養後, 回収したそれぞれの菌糸体を用いてAA分解実験を行った。なお, 72および96時間培養は48時間でAA

濃度が約500 μ g/mlまで低下したので, AAを約1500 μ g/mlになるように追加した。AA分解実験に供した誘導培養後の菌糸体量は培養時間12時間でやや多く, その他はほぼ同量であり, AA分解率は分解時間4時間で48時間培養サンプルが最も高い値であり, 8時間目でも同様であった (Table 1)。次に, AA添加濃度の影響を調査するため, 前培養した菌糸体 1.3 ± 0.2 g (湿重量)を, AA濃度を0, 10, 50, 200, 1600 μ g/mlに調整した改変CD培地 (pH 4.0) で48時間誘導培養後, 回収したそれぞれの菌糸体を用いてAA分解実験を行った。誘導培養した菌糸体の添加後にAA水溶液のAA濃度を測定したところ, すべての条件でほぼ200 μ g/mlであった。AA分解実験に供した誘導培養後の菌糸体量は同量であり, AA分解率は50 μ g/ml以下では低い値であったが, 200および1600 μ g/mlでは高い値を示した (Table 2)。次に, pHの影響を調査するため, 前培養した菌糸体 1.3 ± 0.2 g (湿重量)を, pHを4.0, 5.5, 7.5に調整したAA添加改変CD培地 (AA濃度 200 μ g/ml) で48時間誘導培養後, 回収したそれぞれの菌糸体を用いてAA分解実験を行った。AA分解実験に供した誘導培養後に菌糸体量はほぼ同量であり, 培地pHは, 初発pHに関わらず8.3~8.5に上昇していた。AA分解率は, pH4.0や5.5に比べて, pH7.5でやや高い値であった (Table 3)。次に, AA分解実験に供する

Table 1. Effect of culture period on induction of AA degradation.

		Degradation rate of acrylamide (%)				
Culture period (h)		12	24	48	72	96
Inoculum amount (g, wet weight)		1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Degradation time	4 h	3.9 ± 1.2	13.9 ± 4.0	23.0 ± 12.9	18.0 ± 3.8	16.6 ± 14.1
	8 h	11.6 ± 2.4	46.4 ± 7.9	47.1 ± 20.7	43.8 ± 7.2	33.0 ± 22.8

Modified Czapek-Dox medium (sucrose- and NaNO₃-deficient, AA 200 μ g/ml). The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

Table 2. Effect of acrylamide concentration in culture medium used for induction of AA degradation.

		Degradation rate of acrylamide (%)				
Acrylamide concentration (μ g/ml)		0	10	50	200	1600
Inoculum amount (g, wet weight)		0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Degradation time	4 h	7.1 ± 3.9	5.3 ± 2.2	7.2 ± 3.2	29.3 ± 5.6	32.1 ± 3.7
	8 h	13.1 ± 2.0	11.6 ± 2.6	15.6 ± 4.6	50.8 ± 5.7	57.3 ± 2.8

Modified Czapek-Dox medium (sucrose- and NaNO₃-deficient, pH4.0), at 48 h. The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

菌糸体量の影響を調査するため、誘導培養した菌糸体を 0.9 ± 0.1 g, 1.1 ± 0.1 g, 1.3 ± 0.1 g (湿重量) を用いて AA 分解実験を行った。また、比較対象として、誘導培養していない菌糸体 0.9 ± 0.1 g, 1.3 ± 0.1 g (湿重量) でも AA 分解実験を行った。AA 分解率は、誘導培養していない菌糸体では低い値であったが、同量の誘導培養した菌糸体では著明に高い値であり、誘導培養した菌糸体量 1.3 ± 0.1 g で最も高い値であり、 1.1 ± 0.1 g ではわずかながら低い値を示した (Table 4)。

以上の結果より、*A. oryzae* 菌糸体の AA 分解能は、誘導培養時の培養時間、AA 濃度、pH、菌糸体量によって変化することが示された。培養時間は、48 時間培養で AA 分解率が最も高かったことから、以降の実験を 48 時間に定めて行った。AA 添加濃度は $50 \mu\text{g/ml}$ 以下では AA 分解率が低く、 $1600 \mu\text{g/ml}$ から $200 \mu\text{g/ml}$ に変更しても変化は少なかったことから、 $200 \mu\text{g/ml}$ が適当であると考えられた。AA 含有最少培地で菌糸体を誘導培養した際、菌糸体内に AA が蓄積するか、あるいは吸着していて、菌糸体を AA 水溶液へ移した際に AA が拡散もしくは漏出して AA 濃度を上昇させることが懸念された。しかし、本研究で誘導培養した菌糸体を AA 水溶液などに添加しても AA 濃度の上昇はみられないことを確認した。よって、

AA 分解能の誘導物質として AA は使用可能であると考えられた。また、pH は 4.0 や 5.5 に比べて 7.5 で AA 分解率がやや高い値であったが、その AA 分解率の差異は、ナトリウムイオンの存在によって amidase 活性が上昇することが報告されている¹²⁾ ことから、pH 調整に使用した NaOH の影響が考えられる。しかし、誘導培養によって pH が 8.3 ~ 8.5 に変化したことから、その pH 変化に関係した代謝産物の影響を受けた可能性も考えられるため、さらに研究が必要である。誘導培養した菌糸体は、同量の誘導培養していない菌糸体に比べて AA 分解率が顕著に高い値を示したことから、単に前培養によって菌糸体量が増えたために AA 分解能が向上したのではなく、誘導培養によって AA 分解能が向上したことが推察された。また、誘導培養した菌糸体を増量することで AA 分解率の向上がみられたことから、単位菌糸体あたりの処理量が高めることが AA 低減化には有効であることが示唆された。

次に、前述の実験によって選定した最適誘導培養条件で、*A. oryzae* 4 株の AA 分解能を比較検討した。すなわち、*A. oryzae* KBN1010 株、No.100 株、M-01 株、および RIB40 株の菌糸体 2.0 g (湿重量) を、AA 添加改変 CD 培地 (AA 濃度 $200 \mu\text{g/ml}$, pH 7.5) で誘導培養し、誘導培養後の菌

Table 3. Effect of pH of culture medium used for induction of AA degradation.

		Degradation rate of acrylamide (%)		
pH		4.0	5.5	7.5
Inoculum amount (g, wet weight)		1.0 ± 0	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.1
Degradation time	4 h	41.9 ± 9.7	43.1 ± 3.0	47.7 ± 9.4
	8 h	61.1 ± 12.6	61.7 ± 3.1	68.1 ± 14.1
pH after degradation induction		8.5 ± 0.1	8.3 ± 0.1	8.4 ± 0.1

Modified Czapek-Dox medium (sucrose- and NaNO_3 -deficient, AA $200 \mu\text{g/ml}$) at 48 h. The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

Table 4. Effect of amount of mycelia as inoculum.

		Degradation rate of acrylamide (%)				
		Noninduced			Induced	
Inoculum amount (g, wet weight)		0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1
Degradation time	4 h	7.1 ± 3.9	7.4 ± 1.3	47.7 ± 9.4	65.2 ± 6.1	67.5 ± 12.4
	8 h	13.1 ± 2.0	13.6 ± 2.4	68.1 ± 14.1	85.5 ± 5.2	89.9 ± 3.3

Modified Czapek-Dox medium (sucrose- and NaNO_3 -deficient, AA $200 \mu\text{g/ml}$, pH 7.5) at 48 h. The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

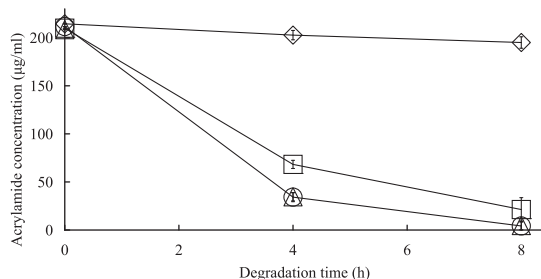


Fig. 1. Acrylamide degradation in acrylamide solution by the mycelia of four strains of *A. oryzae* grown in the optimum induced-conditions. *A. oryzae* No. 100 (○), *A. oryzae* KBN 1010 (△), *A. oryzae* M-01 (◇), *A. oryzae* RIB40 (□). The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

糸体各々 1.3 g (湿重量) を 200 $\mu\text{g/ml}$ -AA 水溶液 30 ml に添加し、AA 分解実験を行った。その結果、AA 濃度は *A. oryzae* M-01 株ではわずかな減少であったが、KBN1010 株および No.100 株の 2 菌株では *A. oryzae* RIB40 株よりも顕著な減少が示され、4 時間で 8 割程度、8 時間ではほぼ分解された (Fig. 1)。そこで、*A. oryzae* KBN1010 株、No.100 株および M-01 株の菌糸体を前述の最適誘導条件で培養し、ほうじ茶浸出液でも AA 分解実験を行った。また、既報¹⁰⁾では、HPLC の測定限界濃度から AA を約 10 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加したほうじ茶浸出液を用いて AA 分解実験を行い、AA 濃度が減少することを確認したが、本研究では、AA 無添加のほうじ茶浸出液 150 ml に各菌株の分生子を 1.2×10^7 植菌して振盪攪拌 (30°C, 120 rpm) し、0, 24, 48, 72 時間目に AA 濃度を測定した。その結果、AA 濃度は *A. oryzae* M-01 株のわずかな減少であったが、KBN1010 株および No.100 株は顕著な減少が示され、最も AA を分解した *A. oryzae* KBN1010 株では 48 時間で約 9 ng/ml、72 時間で約 4 ng/ml であった (Fig. 2 A)。次に、本研究で得られた最適誘導条件で培養した菌糸体を用いて AA 分解実験を行った。すなわち、PDB 培地 150 ml に *A. oryzae* KBN1010 株および No.100 株分生子を 1.2×10^7 植菌して前培養し、AA 添加改変 CD 培地 (AA 濃度 200 $\mu\text{g/ml}$, pH 7.5) で誘導培養した後、菌糸体 4.7 ± 0.4 g (湿重量) を得た。この誘導培養した菌糸体をほうじ茶浸出液 150 ml に入れ、振盪攪拌 (30°C, 120 rpm) し、0, 8, 24 時間目に AA 濃度を測定した。同時に、香りと色調変化も観察した。その結果、2 株共に香りと色調に明らかな変化はみられなかった。一方、AA 濃度は 8 時間後に半減し、24 時間後には検出限界濃度以下にまで減少した (Fig. 2 B)。

分生子では 72 時間後にも AA は残存したが、菌糸体を最適誘導条件で培養することで 24 時間以内に検出限界濃度以下まで低下したことから、本研究で得られた知見

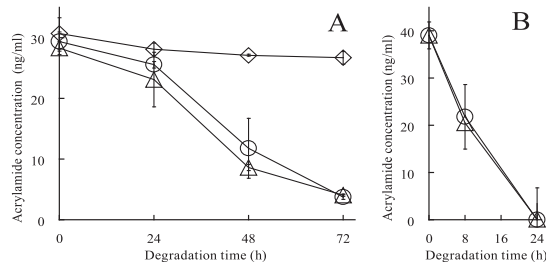


Fig. 2. Acrylamide degradation in roasted green tea infusion by spores and mycelia of *A. oryzae*. Spores from three strains of *A. oryzae* (A) and mycelia of *A. oryzae* two strains grown under for consistency induction conditions (B). *A. oryzae* No. 100 (○), *A. oryzae* KBN1010 (△), *A. oryzae* M-01 (◇). The results were obtained from three independent replicates. The data points represent means and standard deviations.

は意味深いと考える。しかし、AA 水溶液では 8 時間でほぼ分解されたが、ほうじ茶浸出液では半分程度であった。この差異は、ほうじ茶浸出液には amidase 活性を阻害することが報告されている¹³⁾ マンガンや銅が含まれ¹⁴⁾、さらにタンニンも含まれることから¹⁴⁾、それらの成分が amidase 活性を阻害し、AA 分解を遅延したと推測された。

AA 分解試験後のほうじ茶浸出液の香りおよび色調は、食品として十分に許容される範囲であったが、味の変化は未検討であり、微生物処理による変化が推測される。その変化をより少なくするためには短時間処理方法の開発が有用である。酵素分解では風味変化を最小限にすることが可能であるが、アクリル酸の生産・蓄積が懸念される。著者らは *A. oryzae* の AA 分解酵素遺伝子も研究ターゲットにしているが、高生産株が育種できた場合でも短時間微生物分解法を確立することが重要になる。*Rhodococcus* sp. では、アルギン酸包括による固定化後に AA 含有 HEPES 緩衝液 (pH 7.5) で冷蔵保存することで AA 分解能が著明に向上し、さらに AA の毒性が緩和されたことが報告されている¹⁵⁾。また、*Escherichia coli* では固定化によって amidase 産生最大時間の短縮が報告されている¹⁶⁾。よって、*A. oryzae* でも誘導培養および AA 低減処理の菌体利用には固定化の有用性が推察し得ることから、今後、固定化菌体による検討を行う。さらに、ほうじ茶以外の食品でも AA 低減は重要であるので、適用性を調査していきたい。

要 約

麹菌 *Aspergillus oryzae* 菌糸体のアクリルアミド (AA) 分解能の向上に適した培養条件を知るため、培養時間、AA 添加濃度、培地 pH、および菌体量の影響を調査した。次に、選択した最適培養条件で *A. oryzae* 4 株の AA 分解能を比較調査し、さらに高分解株を用いてほうじ茶浸出液中の AA の低減効果を検証した。その結果、*A. oryzae*

RIB40 株菌糸体の AA 分解能は AA を 200 μ g/ml 添加し、培地 pH を 7.5 に調整した炭素源および窒素源を含まない Czapek-Dox 液体培地を使用して 48 時間培養することによって、顕著に向上した。また、選択した最適培養条件では *A. oryzae* KBN1010 株および No.100 株は、*A. oryzae* RIB40 株よりも高い AA 分解能を示した。さらに、この 2 株の菌糸体を前述の培養条件で培養した後、ほうじ茶浸出液中の AA 濃度の低減効果を検討したところ、8 時間で半減し、24 時間後には検出限界以下まで減少した。よって、*A. oryzae* 菌糸体を前記条件で培養することで AA 分解能が顕著に向上し、さらに、ほうじ茶浸出液中の AA 分解時間も短縮可能であることが明らかとなった。

文 献

- 1) Lorelei, M., Sven, S., and Katarina, B.: *JAMA*, **293**, 1326–1327 (2005).
- 2) Mucci, L., Lindbl, A., Steineck, P. G., and Adami, H. O.: *Int. J. Cancer*, **109**, 774–776 (2004).
- 3) Hogervorst, J. G., Schouten, L. J., Konings, E. J., Goldbohm, R., and van den Brandt, P. A.: *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, **16**, 2304–2313 (2007).
- 4) International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some industrial chemicals.60.Lyon (France): IARC; p. 389–433 (1994).
- 5) Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., and Törnqvist, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4998–5006 (2002).
- 6) FAO/WHO: Summary and consultation form the 64th Meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JACFA); WHO:Rome, Italy, p. 7–17 (2005).
- 7) Pedreschi, F., Kaack, K., and Granby, K.: *Food Chemistry*, **109**, 386–392 (2008).
- 8) Mallevialle, J., Bruchet, A., and Fiessinger, F.: *Journal of the American Water Works Association*, **76**, 87–93 (1984).
- 9) Ma, J., Li, G., and Graham, N. J. D.: *Aqua*, **43**, 287–295 (1994).
- 10) Wakaizumi, M., Yamamoto, H., Fujimoto, N., and Ozeki, K.: *J. Biosci. Bioeng.*, in press.
- 11) Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Yada, H., Ishizaka, M., Kobayashi, H., and Yoshida, M.: *Food Addit Contam.*, **20**, 215–220 (2003).
- 12) Mizukami, Y., Kohata, K., Yamaguchi, Y., Hayashi, N., Sawai, N., Chuda, Y., Ono, H., Yada, H., and Yoshida, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 7370–7377 (2006).
- 13) Kotlova, E. K., Chestukhina, G. G., Astaurova, O. B., Leonova, T. E., Yanenko, A. S., and Debabov, V. G.: *Biochemistry (Mosc.)*, **64**, 384–389 (1999).
- 14) 五訂増補日本食品成分表2008資料編, p.250–251, 女子栄養大学出版部 (2005).
- 15) Nawaz, M. S., Billedeau, S. M., and Cerniglia, C. E.: *Biodegradation*, **9**, 381–387 (1998).
- 16) Nampoothiri, K. M., Roopesh, K. Chacko, S., and Pandey, A.: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **120**, 97–108 (2005).