

氏 名	JITPAKDEE JIRAYU
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第 7 1 4 6 号
学位授与の日付	2 0 2 4 年 9 月 2 5 日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	<i>Aspergillus</i> Solid-State Cultivation of Four Different Industrial Strains of <i>Koji</i> Mold on Four Different Rice Cultivars: Microbial Biotransformation of Phenolic Compounds and Proteins (4 種類の醸造用麹菌による 4 種類の米の固体培養：ポリフェノール類とタンパク質の生物変換)
論文審査委員	教授 田村 隆 教授 神崎 浩 教授 仁戸田 照彦
学位論文内容の要旨	
<p>Rice grains provide both nutrients and functional ingredients. Unpolished Thai-colored rice is particularly rich in polyphenols. Additionally, phenolic acids are abundant in both colored and white rice grains. Various industrial strains of <i>koji</i> mold have been used in Japan for over a thousand years to produce fermented products. The use of unpolished Thai-colored rice grains for <i>koji</i> production has never been attempted before. Therefore, this study cultivated four different rice cultivars—Riceberry (Thai black rice), Sangyod (Thai red rice), RD43 (unpolished Thai white rice), and Koshihikari (polished Japanese white rice)—with four different industrial strains of <i>koji</i> mold: <i>Aspergillus oryzae</i> 6001, <i>A. oryzae</i> 6020, <i>A. sojae</i> 7009, and <i>A. luchuensis</i> 8035. It was shown that four <i>koji</i> mold strains grew well on both unpolished Thai and polished Japanese rice grains. Therefore, this study aimed to investigate the biotransformation of polyphenols and proteins through <i>Aspergillus</i> solid-state cultivation.</p> <p>Total phenolic content (TPC) and DPPH antioxidant activity in the methanol extracts of all rice <i>koji</i> sample increased significantly after cultivation and varied depending on <i>koji</i> mold strains. The TPC in the extract of unpolished Thai-colored rice <i>koji</i> was higher than that of unpolished Thai white rice <i>koji</i> and polished Japanese white rice <i>koji</i>. Moreover, UHPLC-PDA-MS analysis revealed an increase in the contents of flavonols, flavanols, proanthocyanidins, and phenolic acids after cultivation. It is known that polyphenols in plants are found in free and bound forms. Due to the expression of various enzymes by <i>koji</i> mold, it is possible that <i>koji</i> mold releases bound polyphenols into a free form, leading to increased alcohol-soluble polyphenols.</p> <p>Total amino acid content in the methanol and 20 mM HCl extracts of 16 <i>koji</i> samples increased significantly after cultivation. Additionally, the increase in amino acid content in both extracts of all rice <i>koji</i> samples cultivated <i>A. luchuensis</i> 8035 was lower compared to that of all rice <i>koji</i> samples cultivated with the other three strains, except for the glutamine and glutamic acid contents, which were comparable or higher. This is related to the lower γ-aminobutyric acid content, presumably due to low glutamate decarboxylase activity. UHPLC-TOF-MS/MS analysis revealed that the methanol extract of Riceberry <i>koji</i> cultivated with <i>A. oryzae</i> 6001 showed branched-chain amino acids (BCAAs) at <i>N</i>-terminal dipeptides. Comparing the total amino acid and dipeptide contents between Riceberry <i>koji</i> and Koshihikari <i>koji</i> cultivated with the same strain <i>A. oryzae</i> 6001, both amino acids and dipeptides accumulated in Riceberry <i>koji</i>, but only amino acids accumulated in Koshihikari <i>koji</i>. This presumed that the accumulation of dipeptides may be due to the inhibition of dipeptide-degrading enzymes by flavonoids.</p> <p>Overall, <i>Aspergillus</i> solid-state cultivation on four unpolished Thai and polished Japanese rice varieties with four different industrial strains of <i>koji</i> mold leads to distinctive biotransformation, resulting in unique characteristics. From this phenomenon, it is possible to create a new highly functionalized rice <i>koji</i>.</p>	

論文審査結果の要旨

本学位論文申請者は、麹菌が固体培養において、液体培養では発現しない多種類の酵素を生産することに着目し、ポリフェノール類などの二次代謝産物を生産することが知られているタイの有色玄米2種の麹菌固体培養による微生物変換を実施し、その成分変化を精査することを目指した。比較として、タイの白色玄米、日本の精白米についても麹菌固体培養を行った。

まず、醸造産業で実際に用いられている4種類の麹菌を用いて、4種の米試料への接種試験を行ったところ、16種類全てにおいて良好な麹菌菌糸の成長が観察されるとともに、麹で一般的に測定されている糖質分解酵素・タンパク質分解酵素活性が高発現していることが確認できたことから、タイの玄米においても日本の精白米と遜色なく麹菌が生育することを明らかにした。

続いて、それぞれの麹試料と、麹菌接種前の蒸米試料からメタノール抽出物を調製したところ、総ポリフェノール量が全ての麹において上昇していることが判明し、その量は有色玄米麹がそれ以外の米麹よりも高いこと、それに応じてDPPH抗酸化活性も増大することを明らかとした。この現象は、細胞壁等に結合しているため抽出されにくい結合型ポリフェノールが麹菌の酵素作用により遊離型に変換された結果であると考察した。これらの抽出物のUHPLC分析により、特定のポリフェノール類を定量したところ、米試料ごと、麹菌ごとに特徴的な成分変化が認められた。

さらに、希塩酸抽出物中のアミノ酸の定量を行ったところ、全ての麹試料においてタンパク質由来アミノ酸とγアミノ酪酸(GABA)の増加が観察された。ポリフェノールの場合と異なり、4つの米試料による増加の違いはそれほどなかったが、麹菌株ごとには特徴的な変化が観察され、黒麹菌はそれ以外の3株と異なりGABA生成量が少なかった。

以上の結果から、タイ産有色米を含む4種の米を異なる産業用麹菌で固体培養すると、全ての麹において成分変化が生じ、かつその変化が米ごと、麹菌ごとに異なることが明らかとなり、新規高機能性素材への応用の可能性が示された。また、本研究の内容の一部は国際的な論文誌に掲載されている。以上のことから、本学位論文申請者は博士の学位に値するものと判定する。