味噌用米麴に関する研究

(4) 3·5 Dinitrosalicylic acid 試薬による米麴アミラーゼ測定法

本 間 伸 夫*

(NOBUO HONMA)

3·5 dinitrosalicylic acid (以下 3·5 DNS) 試薬による還元糖の比色定量¹⁾²⁾は SUMNER に始まって広く利用されている。本比色法は操作が簡易で、比較的正確、低廉という利点がある。この比色法を利用するアミラーゼ測定法については NOELTING ら³⁾いくたの報告⁴⁾⁵⁾があるが、標題の研究を行うに当り、酵素標本を一時に多量に扱う必要が生じたので、米麴アミラーゼの場合について検討を加え、その測定法を設定した。

実 験

1. 3·5 Dinitrosalicylic acid 試薬による還元糖の比色定量

単に還元糖の測定に用いられる場合と、酵素力測定に用いられる場合とで求められる性質も異ってくる。一般に麴菌アミラーゼは強力であるから、還元糖測定の感度はそれほど高くなくても良く、また還元糖の絶対量の測定ではなく、その増加分すなわち相対量の測定であるからバイアスはそれほど問題ではない。最も必要なのは精度とその信頼性の高いことである。また酵素力の測定は一度に多数併行して行うことが多いから、それ自身の操作が簡易であるだけでなく、その還元糖測定法を用いることによつて酵素測定操作の方も簡便になることが望ましい。以上の諸点に立つて 3·5 DNS 試薬の検討を行った。

(1) SUMNER の micro および macro 試薬の比較
micro 試薬は感度を上げるために macro 試薬にフェノール、酸性亜硫酸ソーダを添加したもので、つぎの組成を有する。

3·5 DNS 1% 水溶液	880 ml
10% NaOH 水溶液	330 ml
ロッシェル塩	250 g

この3者を溶解したもの (macro 試薬) に下記溶液全量を加える。

第1図 micro および macro 試薬による検量線

フェノール	6.9 g
NaOH	1.5 g
NaHSO ₃	6.9 g
水	69 ml

両試薬 5 あるいは 3 ml にサンプルとして既知濃度のグルコース溶液 1 ml を加え、沸騰水で 5 分間加熱後冷却、水にて 20 ml とし光電管比色計 (フィルター 570 mμ) で比色し、呈色曲線を求めた。その結果は第1図に示す。micro 試薬ははるかに感度が良いことが認められたので、以降 micro 試薬を用いることとした。

(2) アルカリ溶液による試薬の稀釈

3·5 DNS 試薬は呈色時におけるアルカリ度によつてその発色度が影響され、サンプルの状態によつては数値が変動する。この点過剰のアルカリによる呈色の安定化、酵素反応の停止という点および第1図に示したように試薬量 5 ml と 3 ml とで呈色に大差が生じないという点から苛性ソーダ溶液により稀釈した。

まず micro 試薬を原液とし、これを 100, 75, 50, 25 容とり、1 N NaOH にて 100 容として、この稀釈試薬 5 ml にサンプル液 1 ml を加え、同様操作で呈色し、第2回の結果をえた。稀釈倍率が上につれて感度も下るが、25% では彎曲する傾向を示すので、50% すなわち2倍稀釈を採用した。つぎに2倍稀釈における苛性ソーダ濃度との関係を同様に求め、その結果を第3図に示

* 新潟県食品研究所 (加茂市上条)
1958年10月6日受理

した。1 N の濃度で最も吸光度高く 0.5~1.0~1.5 N とこの前後が最もアルカリ濃度による変動が少ないの

第2図 3.5 DNS 試薬稀釈倍率と呈色および検量線

第3図 アルカリ濃度と呈色

第4図 加熱時間と呈色

で、1 N 苛性ソーダを採用することとした。

(3) 加熱時間と呈色

沸騰水に浸漬する時間について検討した結果は第4図のごとくで、普通行われている5分間で十分である。

(4) 糖液に試薬添加後の放置時間の呈色に及ぼす影響

試薬は 1 N 以上のアルカリ度を有するので、糖類は分解される恐れがある。どの程度の放置が可能かについて検討した。その結果は第1表のごとくで、少なくとも 160 分までは放置しても定量値に影響を与えない。室温低い場合はさらに安定である。

(5) 呈色後の安定性

加熱呈色後水にて 20 ml となし、その色調の変化を求めた結果は第2表のごとくで、少なくとも 17 時間は完全に安定である。なお放置温度は 30°, 糖はブドウ糖である。

第1表 試薬添加後の放置時間と温度の呈色に及ぼす影響

放置時間 ■(分)	糖 (mg)	放置温度 (°C)	吸光度 (Log I ₀ /I)
0	glucose (0.2)	28-33	0.1284
30	" (")	"	0.1391
80	" (")	"	0.1457
160	" (")	"	0.1387
1320	" (")	"	0.0128
0	" (1.0)	"	0.5654
30	" (")	"	0.5660
80	" (")	"	0.5591
160	" (")	"	0.5498
1320	" (")	"	0.2984
0	" (0.2)	1-8	0.1403
30	" (")	"	0.1439
80	" (")	"	0.1427
160	" (")	"	0.1427
1320	" (")	"	0.1244
0	" (1.0)	"	0.5391
30	" (")	"	0.5513
80	" (")	"	0.5467
160	" (")	"	0.5638
1320	" (")	"	0.4989

第2表 呈色後の色の安定性

時 間 (分)	glucose	
	0.2 mg	1.0 mg
0	0.1284	0.5654
30	0.1278	0.5686
60	0.1280	0.5622
120	0.1278	0.5622
180	0.1284	0.5575
1020	0.1267	0.5591

(6) 試薬の安定性および測定管理

3.5 DNS 試薬 (1 N NaOH による2倍稀釈液) を室温に放置して1日2人の分析者が各2回ずつ繰返してブドウ糖および麦芽糖について測定した。その結果は第5図のごとくで、 $\bar{x}$ は2回繰返しの平均値、Rはその差額である。なお分析は毎日行つたのではなく、時々とんでいるので管理図に示した No. 41 および 42 は No. 1 および2より30日後である。

平均値 ($\bar{x}$) および範囲 (R) はすべて限界内にあつて管理状態にある。このことは3.5 DNS 試薬自身も十分1カ月は安定であることを示している。また分析法は十分信頼でき、操作もよく管理されている。

(7) 誤差範囲の推定

サンプルとして各種米麴酵素を可溶性澱粉に作用させたのち、沸騰水にて15分間加熱して酵素反応を停止したもので、分析値は第3表のごとくである。

この6回繰返しの分析値に基づいて、本試薬を用いる比色法の不偏分散および標準偏差の推定値を求め、さらに信頼度95% (危険率0.05) の場合の誤差範囲を求める

第3表 各種麴酵素反応液中グルコース量分析値 (mg)

麴	1	2	3	4	5	6	平均値
I	1.05	1.04	1.04	1.05	1.06	1.05	1.048
II	0.91	0.91	0.90	0.90	0.91	0.91	0.907
III	1.44	1.46	1.45	1.45	1.44	1.45	1.448
IV	1.96	1.95	1.95	1.95	1.96	1.95	1.953
V	0.38	0.37	0.38	0.39	0.38	0.38	0.380

第4表 誤差範囲の推定

麴	不偏分散	標準偏差	$\pm t \times s$	$\pm 100 ts /$ 測定平均値
I	0.56×10^{-4}	0.75×10^{-2}	0.0193	1.84%
II	0.26 //	0.51 //	0.0131	1.44 //
III	0.44 //	0.66 //	0.0170	1.17 //
IV	0.26 //	0.51 //	0.0131	0.67 //
V	0.40 //	0.63 //	0.0162	4.26 //
平均				$\pm 1.876 //$

と第4表のごとくで、平均1.876%と推定される。この数値は藤井ら⁶⁾の $\pm 1.92\%$ 、吉野ら⁷⁾の $\pm 1.7\%$ とほぼ似た数値である。

2. 味噌用米麴のアミラーゼ測定

(1) 酵素力測定における3.5 DNS 試薬についての二三の問題点の検討

(i) 3.5 DNS 試薬による酵素反応の停止

酵素力値の測定において反応温度条件とともに反応時間が厳密である必要がある。このため普通酸やアルカリで一旦酵素反応を停止してから、改めて反応生成物を測定している。この場合反応生成物を測定する試薬でもつて酵素反応を停止出来れば、操作がより簡単となる。本試薬はアルカリ濃度が0.5 N 以上であるので、酵素反応液を試薬に混ぜれば酵素反応は停止するわけである。

米麴抽出液 5 ml を可溶性澱粉 5 ml に40°C で働かせ、直ちに反応液に予め40°C に加温しておいた3.5 DNS 試薬 50 ml を加えて、放置一定時間毎に一定量を取り、加熱呈色還元糖量を求めた。その結果は第6図に

第5図 分析管理図

第6図 酵素反応液中還元糖量の試薬中の変化 (40°)

示した通りで、酵素反応は停止するが第1表に示した通り、逆に還元糖量がアルカリによる分解で減少する。30分以内に呈色した方がよい。

(ii) 基質分解生成物の濃度と呈色

可溶性澱粉を米麴抽出液により分解し、この液を煮沸して酵素反応を停止させたものを適宜稀釈し、その濃度と呈色度との関係を求め第7図の結果をえた。直線的な関係を有するから反応生成物の還元糖の定量が可能であり、酵素測定に利用できる。

(2) 酵素液調製法

(i) 米麴より酵素の抽出

清酒用米麴からの酵素抽出最適条件として島田ら⁹⁾は α および糖化型アミラーゼの測定には、pH 5.0の緩衝液 5% を含む 0.5% 食塩水による 60 分振盪あるいは 30℃ 3 時間静置の条件をえている。

この他さらに二三問題となる点について検討を行った。抽出溶剤として 1% 食塩水を用いた。これは後述するように糖化型アミラーゼの測定において、 α アミラーゼを消去の場合、pH 3.5 にする場合容易かつ正確であることと抽出時における pH が普通の麴抽出液の示す範囲ではほとんど認められないことが第5表の結果から

第7図 基質分解物濃度と呈色

認められたためである。すなわち米麴 2.5 g に各 pH McILVAINE 緩衝液を 5% 含む 1% 食塩水 50 ml を加えて室温 60 分振出した酵素液でもつて力価を測定した。

細い pH の働きよりも温度条件の検討も必要と考えられる。この点なるべく温度条件を一定にして浸出することが望ましい。以上の結果から麴を粒のまま 2.5 g フラスコにとり、1% 食塩水 50 ml を加え、60 分間振盪抽出し、濾液を酵素原液とした。

(ii) α アミラーゼ消去法

処理条件として島田ら⁹⁾の結果にしたがつて、pH 3.5, 40°, 15 分をとった。前記 20 倍抽出原液 1 ml に 40° に予熱しておいた pH 3.5 の McILVAINE 緩衝液 5 ml を加え、40℃ に 15 分保ち、15 分後直ち N/10 苛性ソーダと pH 5.0 の同緩衝液を加えて pH を 5.0 に戻し、最終液量を 20 ml とした。なお抽出原液 1 ml に pH 3.5 McILVAINE 緩衝液 5 ml を加えた時の pH の動きについて種々の米麴について検討したが、ガラス電極 pH メーターの精度以内であつた。

味噌用米麴について α アミラーゼを消去した S アミラーゼと、単に 20 倍に稀釈した未処理アミラーゼの糖化曲線を比較して、第8図の結果を得た。

(iii) 見かけの糖化力測定用酵素液調製法

抽出原液を pH 5.0 の McILVAINE 緩衝液にて単に 20 倍に稀釈する。これは第1報¹⁰⁾にて T-アミラーゼとして示したもので、一般に麴の澱粉分解力を実用的に比較する時にはかなりよく一致する。

(3) 澱粉糖化力測定法の設定

(i) 基質濃度の影響

各濃度の可溶性澱粉溶液 (pH 5.0 McILVAINE 緩衝液 25% 含む) に α 消去および未消去アミラーゼを 40° で反応させ、増加した還元糖量をグルコースとして表わし、第9図の結果を得た。基質濃度 1% 以上ではほぼ基質濃度に左右されることなく還元糖を生成することを認めた。

第5表 抽出緩衝液の pH と抽出液酵素力価

温度	振盪時間	緩 衝 液				pH			
		4.5	5.0 S-アミラーゼ	5.5	6.0	4.5	5.0 α -アミラーゼ	5.5	6.0
1~5°	30'	41.0	39.9	40.2	39.0	110.0	108.4	115.0	109.4
	60'	40.6	40.7	39.2	41.0	111.2	109.6	113.0	112.2
	120'	41.2	40.6	41.2	41.0	113.0	111.4	114.1	111.5
18~20°	30'	42.2	43.1	41.4	42.5	114.2	112.0	114.2	112.4
	60'	41.5	42.0	42.0	42.9	114.0	115.2	113.2	112.6
	120'	42.0	42.9	42.6	42.6	114.5	115.2	113.0	113.5

注：供試米麴，外碎米麴

第6表 抽出原液 1 ml に緩衝液を加えた場合の pH の変化

緩衝液量 (ml)	麴 (普通味噌用)			
	A	B	C	D
2	3.48	3.51	3.48	3.49
4	3.50	3.50	3.51	3.51
6	3.50	3.50	3.52	3.51
8	3.49	3.48	3.50	3.50
10	3.50	3.52	3.49	3.49

第8図 α アミラーゼ消去および未消去米麴アミラーゼによる澱粉糖化曲線
A: 外碎米麴 B: 内地粒米麴

第9図 澱粉濃度の影響

(ii) 酵素濃度の影響

酵素量と反応生成物量との関係を求め、反応生成物量を還元糖（グルコース）として求める時には、 α アミラーゼを消去した S アミラーゼでは、120 分の長時間作用させた場合でも大体酵素量と還元糖量が比例する。これに対して未消去で S と α アミラーゼ混合酵素の場合は短時間の作用でも比例しにくい。ごく酵素濃度の低い場合に限られている。

(iii) 酵素反応と pH

米麴の α 消去および未消去酵素について pH 活性曲線を求めた。結果は第 11 図に示したように pH 5.0 にピークを得た。普通味噌熟成の場合の pH 5.0~5.5 とよく一致する。

(iv) 糖化力測定法の設定

以上味噌用米麴について、その澱粉分解力について種々検討して来た結果を総合して、3.5 DNS 試薬による測定法をつぎのように設定した。

(a) 抽出: 米麴 2.5 g に 1% 食塩水 50 ml を加

第10図 酵素濃度と還元糖生成量との関係

第11図 味噌用米麴 pH-活性度曲線

え、室温にて 60 分振盪抽出後濾過する。

(b) α アミラーゼ除去法：抽出液 1 ml に pH 3.5 McILVAINE 緩衝液 5 ml を加え、40° 15 分処理後 pH 5.0 に戻し、20 ml とする。なお見かけの糖化力を求める時には、単に pH 5.0 の緩衝液で 20 倍に希釈する。

(c) 反応条件：作用温度は 40°C, pH 5.0, 反応時間は S アミラーゼで 60 分、見かけの糖化力は沃度反応が消失前であることを確かめて 15 分とする。普通の麴では十分沃度反応消失前である。

S アミラーゼ

2% 可溶性澱粉液 (25% の緩衝液を含む)	5 ml
酵素液	5 ml
見かけの糖化力 (T-アミラーゼ)	
2% 可溶性澱粉液 (25% の緩衝液を含む)	5 ml
McILVAINE 緩衝液 (pH 5.0)	2.5 ml
酵素液	2.5 ml

(d) 酵素反応の停止および還元糖量測定：上記反応条件で酵素反応させて、15 分あるいは 60 分後、1 N 苛性ソーダで 2 倍に希釈した 3-5 DNS micro 試薬 5 ml に反応液 1 ml を加え、振盪後なるべく早く少くとも 30 分以内に沸騰水にて 5 分間加熱呈色させる。呈色後冷却し水にて 20 ml とする。実際は加熱呈色の間の蒸発による減量は無視出来るので、水 14 ml を加えて 20 ml とする。光電比色計でフィルター 570 m μ にて測定、還元力をグルコース (A mg) として表わす。同様加熱不活性化した酵素標本によつて反応時間 0 分における反応液 1 ml 当りのグルコース (B mg) として測定する。

(e) 酵素単位の表示：40°C で一定時間に反応液 1 ml につき生成増加した還元力をグルコース (mg) で求めて、次式により抽出原液 1 ml 当りの力価単位とする。さらにこれを 20 倍すれば、麴 1 g 当りの力価となる。

S アミラーゼ………40 (A-B) 単位

見かけの糖化力………80 (A-B) 単位

(v) アミラーゼ測定管理

本測定法がどの程度信頼おけるかについて、ジアスターゼ（見かけの糖化力）および米麴（S アミラーゼ）を酵素標本として検討した。

(a) 酵素標本：市販ジアスターゼを 1% 食塩水に 1 mg/ml の濃度で溶解し、その 10 ml に 0.5 g の Ca(HPO₄)₂·H₂O を加え、さらに pH 5.0 McILVAINE 緩衝液にて 100 ml となし、冷蔵庫に放置保存する。

米麴酵素は前述した通りに α 消去した S アミラーゼ標本で、同様 Ca(HPO₄)₂·H₂O を添加冷蔵庫に保存した。

(b) 反応条件：すべて 40°C, pH 5.0 とする。

	ジアスターゼ	米麴 S アミラーゼ
酵素液	2.5 ml	5.0 ml
緩衝液	2.5 //	—
2% 澱粉液	5.0 //	5.0 //
作用時間	15分	60分

(c) 測定結果：15 分あるいは 60 分間に反応液 1 ml 当りに増加したグルコース量 (mg) を 40 倍して、ジアスターゼでは原末 1 mg 当りの、米麴では原抽出液 1 ml 当りの力価単位として表示した。その結果は第 12 図のごとく管理図で示した。測定は毎日 2 人の分析者が 2 回ずつ、前記保存酵素液について行つた。 $\bar{x}$ は 2 回の平均値、R はその差である。第 12 図の結果をみると $\bar{x}$ も R もすべて管理限界内にあつて、十分管理されており、定量法もその操作法も十分信頼出来るものと考えられる。しかしこの場合には同一酵素標本を用いたので、酵素液の調製および処理という要因が入っていない。だからここで問題となつたのは酵素反応、反応生成物量の測定および力価算出という一連の操作である。酵素標本の調製を含めて検討する場合には得られる数値はさらにバラつくものと考えられる。第 12 図に示した実験の管理期間は 15 日間であるが、力価の減少はともに認められなかつた。

(vi) 誤差範囲の推定

サンプルとしてジアスターゼおよび米麴について検討

第 7 表 各種酵素の力価***

No.	酵 素	種 類	1	2	3	4	5	平 均
1	Diastase A	T*	149.4	149.6	157.2	147.9	150.5	150.92
2	// B	T	21.6	21.3	22.7	23.0	21.5	22.02
3	// C	T	18.6	18.2	19.8	18.9	18.1	18.72
4	外 米 麴	T	138.3	136.0	145.4	134.6	140.1	138.88
5	内 地 米 麴	T	93.3	90.4	88.8	86.7	87.5	89.34
6	Diastase A	S**	15.3	14.3	13.3	16.0	15.2	14.82
7	外 米 麴	S	50.4	44.4	47.0	49.8	45.9	47.50
8	内 地 米 麴	S	19.2	18.0	18.8	19.9	17.4	18.66

* T：見かけの糖化力，** S：糖化型アミラーゼ，*** 麴は抽出原液 1 ml，ジアスターゼは 1 mg 当りの力価にて示す

(1) 外米麴 (S)

(2) Diastase (T)

第12図 酵素力測定管理図

第8表 酵素力測定法誤差範囲の推定

麴 No.	種類	不偏分散	標準偏差	±ts	±100 ts/ 平均値
1	T	13.197	3.632	10.097	6.69%
2	"	0.597	0.773	2.149	9.76 "
3	"	0.467	0.684	1.902	10.16 "
4	"	17.737	4.210	11.704	8.43 "
5	"	6.863	2.620	7.284	8.15 "
6	S	1.088	1.043	2.900	19.56 "
7	"	6.560	2.561	7.120	14.99 "
8	"	0.968	0.984	2.735	14.66 "

した。第7表に各種酵素について5回ずつ繰返した結果を示す。

この5回繰返しの数値に基いて、3.5 DNS 試薬を利用する澱粉糖化力測定法の不偏分散および標準偏差の推定値を求め、さらに信頼度 95% (危険率 0.05) の誤差範囲を求めると第8表のごとくである。

誤差範囲の平均値は 11.550% であるが、見かけの糖化力 (T) の場合の平均は 8.638% であるのに対して、糖化型アミラーゼ (S) の場合は平均 16.403% で極め

て高い。一般にこの様に測定値のブレが大きいのは、酵素力測定はいくつかのプロセスが総合されて完成するもので、変動しやすいプロセス、例えば供試酵素標本の調製、基質への作用などがあるためと考えられる。このため反応生成物量の測定がよく管理されていても、結果として誤差が大きくなるものであろう。しかし同一酵素標本の場合には第12図に示したように比較的良好に管理されているから、酵素液の調製処理に問題が多いものと推察される。

考察および要約

1. 米麴のアミラーゼ測定に用いるために 3.5 DNS 試薬による還元糖の測定について検討した結果、グルコースについては精度高く、比色法もその操作も十分信頼できることを認めた。また操作法も簡単に試薬も安定であるから、アミラーゼ測定における還元糖の定量にむくものと考えられる。しかし第2図に示したように、等モルのグルコースとマルトースでは同じ呈色をしなければならないのに、後者は前者の 1.4 倍以上も強く出ている。これは呈色が還元性末端基にのみよるものではないことを示し、グリコシド結合の分解量を正確に与えない。さらに可溶性澱粉もかなりの呈色をするから、酵素反応で基質濃度が高くなるとブランクが高くなることが考えられる。しかし同一種類あるいはその組成に類似した酵素系、例えば比較的范围を米麴というように限定する場合には十分利用できるものと考えられる。

2. 3.5 DNS 試薬による還元糖の定量法を澱粉糖化力測定に利用するため味噌用米麴をサンプルとして種々検討した。

還元糖定量の試薬自身により酵素反応を停止でき、呈色、比色操作も簡単であるので、力価測定法全体は簡便で、多数を一時に取り扱う場合有利である。糖化型アミラーゼ標本を用いるときには還元糖生成と酵素濃度はほぼ完全に比例する。

酵素液の調製処理が問題にならない場合、すなわち同一酵素標本について検討すると、かなりよく管理されていた。しかし酵素標本の調製処理の操作を含む場合には、その数値はかなり変動し、その誤差範囲は大きい。特に α 消去の操作の入る糖化型アミラーゼの場合大きい。誤差範囲を8酵素について検討した結果、全体では 11.550%、糖化型アミラーゼでは 16.403%、見かけの糖化力では 8.638% であった。

以上の研究を報告するに当たり、日頃御指導頂いている原沢所長および実験に協力していただいた田代助手、桑原、高岡両研究生に深く感謝の意を捧げます。

文 献

- 1) J. B. SUMNER: *J. Biol. Chem.*, **62**, 287 (1925).
- 2) J. B. SUMNER: *ibid.*, **65**, 393 (1925).
- 3) G. NOELTING, P. BERNFELD: *Helv. Chim. Acta.*, **31**, 286 (1948).
- 4) J. B. SUMNER, S. F. HOWELL: *J. Biol. Chem.*, **108**, 51 (1935).
- 5) G. N. SMITH, L. STOCKER: *Arch. Biochem.*, **21**, 59 (1949).
- 6) 藤井千代吉, 木島公照: 調味科学, **5**, No. 3, 4 comb. 22 (1957).
- 7) 吉野宏, 富野登子, 吉備政次郎: *ibid.*, **2**, No. 4, 1 (1954).
- 8) 島田四郎, 杉田脩, 水本邦彦, 蔭山公雄: 醸酵工学 **32**, 68 (1954).
- 9) 島田四郎, 杉田脩, 水本邦彦: *ibid.*, **31**, 498 (1953).
- 10) 本間伸夫, 明田川太七郎, 田代友蔵: 本誌, **5**, 113 (1958).

納豆の風味改善に関する研究

(第1報) 納豆菌のグルタミン酸ソーダ利用性について

戸 井 文 一*・小 俣 靖*

(BUNICHI TOI)

(YASUSHI OMATA)

納豆の品質を向上させるためには納豆菌の繁殖を旺盛にして粘質物の質を良くし、かつその量を増すことが必要である。このためには納豆製造の際の菌種の選択、醗酵条件の適正な管理も必要であるが、さらに進んで予め納豆の味を良くし、しかも納豆菌の栄養源となるものを醗酵前に添加することも有効な手段と考えられる。

かかる観点からわれわれは、蒸煮大豆にグルタミン酸ソーダを添加し醗酵させた場合の納豆の風味に及ぼす影響を検討し、さらに納豆菌のグルタミン酸ソーダの利用性につき実験を行つた。

本研究を行うに先だち予備実験としてグルタミン酸ソーダを蒸煮大豆に添加し、醗酵させて実際に納豆を製造し、納豆に対するグルタミン酸ソーダの種々の効果をしらべた。その結果0.5%添加した場合は醗酵後の味もよく、粘質物の質、量も無添加のものに比し極めて良好であつた。

一般に味、匂などの風味については現在官能試験によるのが常法であるが、本研究においてはグルタミン酸ソーダの納豆粘質物に対する効果に主眼を置き、液体培地を用いて納豆菌を培養し、増殖菌体の窒素量をもってその効果を判定することとした。現在までに合成液体培地、大豆抽出液などを基本培地とする培養実験により若干の知見を得たので、その結果について報告する。なお、ロイシン、リジンについても同様の実験を行い、グ

ルタミン酸ソーダの効果と比較した。

実 験 方 法

1. 納豆菌の液体培養

(1) 供試菌株: 市販三浦納豆菌を寒天平板培養により純化したものを用いた。

(2) 使用培地

(i) 合成培地: HENDLIN¹⁾ ならびに坂口氏²⁾ の提案せる培地を基礎として喜田, 寺本氏ら³⁾ が修正を加えた合成培地を使用した。

組成は第1表の通りである。

(ii) 大豆抽出液: 生大豆を納豆製造時と同様に浸漬、蒸煮した大豆 100 g に水 500 cc を加え、40℃ および 60℃ の温度で、おのおの 30 分間加温浸出し、2種の大豆抽出液を調製した。大豆抽出液の抽出条件には問題があるが、抽出液中の窒素量から前記の条件を適当なも

第1表 培地 1 l 中の各成分含量

Thiamine	1 mg	K ₂ HPO ₄	500 mg
Riboflavin	1 "	KH ₂ PO ₄	500 "
Pyridoxine	1 "	MgSO ₄ ·7H ₂ O	200 "
Pyridoxal	1 "	MnSO ₄ ·4H ₂ O	10 "
Ca-pantothenate	1 "	FeSO ₄ ·7H ₂ O	10 "
Nicotinic acid	0.2 "	Glucose	5 g
Biotin	0.01 "	Citric acid	1 "
Folic acid	0.01 "	Acid hydrolysate	
Adenine-sulfate	10 "	of casein	20 g
Guanine-HCl	10 "	pH	6.8
Xanthine	10 "		
Uracil	10 "		

* 味の素株式会社食品研究室 (東京都中央区宝町)
1958年10月17日受理