

平成3年度における醤油・味噌並びに L-グルタミン酸及び核酸の研究業績

平成3年度の醤油・味噌ならびにグルタミン酸・核酸の研究業績をみると、醤油・味噌については一段と進歩した高度な技術による醸造微生物の育種ならびに代謝の検討がなされてきており進歩のあとがうかがえる。また、新技術によるこれらの生産の試みもなされているが一層の進展を期待したい。もっとも注目されることは醤油の賞味期間が決定されたことと醤油の抗変異原性が明らかにされたことであろう。グルタミン酸・核酸発酵については取り上げた業績の半数以上が特許として出願されたものであるが、これらの生産並びに利用については、調味料にこだわることなく大きく研究が発展することを期待したい。

編 集 部

I. 醤油に関する研究

(1) 原料および原料処理

特許を紹介すると、加藤ら¹⁾の「糊化澱粉粒状物の製造法」、小川ら²⁾の「膨化豆およびその製法」、西沢³⁾の「アルファー化米」、藤原ら⁴⁾の「焙焼装置」、宮嵜ら⁵⁾の「醤油用加工原料の製造法」、永田ら⁶⁾の「変性醸造原料の加水方法および装置」、田中ら⁷⁾の「植物性蛋白食品の製造法」、門馬ら⁸⁾の「風味原料の処理方法」などがあ

(2) 製麹、麹菌、プロテアーゼ

牛島ら⁹⁾は、高プロテアーゼ生産株 *Aspergillus sojae* 2048 とそれとは起原の異なる高グルタミンナーゼ生産株 *A. sojae* 2165 を同種間プロトプラスト融合させ、新しい麹菌株の育種を検討した。牛島ら¹⁰⁾はさらに、これらのプロトプラスト融合より得た *A. sojae* の2倍体融合株を親として、変異と半数体化の2方向からその酵素生産性の改良を検討し、プロテアーゼ活性とグルタミンナーゼ活性の双方がともに高生産水準である高酵素生産株を得た。牛島ら¹¹⁾は *Aspergillus oryzae* (黄色, met-) と *A. sojae* (白色, bio-) の異種間プロトプラスト融合を行い、得られた融合株の分生子色と栄養要求性は相補する性質が示された。融合2倍体では分生子表面はどちらか一方のタイプを示し、また電気泳動型でみるとどちらか一方の種のアルカリプロテアーゼを生産し両種類生産するものは見出せなかった。また、牛島ら¹²⁾はここで得られた緑色融合株を半数体化して多くのセグリガントを得た。セグリガントのアルカリプロテアーゼ電気泳動型は

選択的に発現されており、融合、半数体化の過程でアルカリと酸性の両プロテアーゼ電気泳動型は連動して挙動していた。またペプチダーゼの生産性が増強された株が得られ、麴酸およびアスペルギン酸の生産性をも変換し得た。

牛島ら¹³⁾は麹菌 *A. oryzae* と *A. sojae* プロトプラストの異種間電気融合の条件を確立した。電気融合による融合頻度は最高 2×10^{-5} であり PEG 法より高く、PEG 法では頻度の低い融合組み合わせでも融合株が多く得られた。安定融合株の15株すべて、分生子表面形態は *oryzae* タイプの粗であり、*oryzae* と *sojae* の緑色融合株の分生子表面形態はどちらか一方になることを再確認した。緑色融合株では *A. oryzae* のアルカリプロテアーゼ泳動タイプが優先的に発現した。これらの株のなかに *A. oryzae* の泳動を示すが、生産性が *A. sojae* なみに高水準の株が見出された。アルカリプロテアーゼの選択発現に関して、プロモーター以外に酵素生産量を支配する因子がトランスに作用する可能性が考えられる。牛島¹⁴⁾は麹菌の改良、育種について醤油麹菌の融合を中心に解説した。麹菌の改良、育種は主に酵素生産能の増大を目的として人工変異、交雑、細胞融合などの方法により行われてきた。醤油麹菌では、プロテアーゼ高生産変異株、ペプチダーゼおよびグルタミンナーゼ高生産変異株、 α -アミラーゼ低生産変異株等が取得されており、同系統麹菌融合、同種内異系統麹菌融合、異種間麹菌プロトプラスト融合等が行われている。

池ヶ谷ら¹⁵⁾は黄麹菌 *A. oryzae* ATCC 20386 のアルカリプロテアーゼ (Alp) の安定化の目的で、ジスルフィド結合を導入し2種類の変異体 Alp を作製した。変異体 Alp は野生型 Alp と同じ比活性を示し、さらに耐熱性を獲得していた。

辰巳ら¹⁶⁾は *A. oryzae* に由来するアルカリプロテアーゼ (Alp) のプロ領域のプロセッシングが自己消化によるものか否かを検討するために、Alp の活性中心と推定される Ser 228 に対応するコドンに Ala コドンに置換した変異型 Alp cDNA を構築した。この cDNA を酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において発現させたところ、菌体外に抗 Alp 抗血清と反応する蛋白質は分泌されず、菌体内にプロ体と推定される前駆体が蓄積した。この結果より、Alp の活性はプロセッシングと分泌の両方に必要であることが示唆された。

西村ら¹⁷⁾は *A. oryzae* A 21 の二次代謝産物であるアスペルギリン酸 (AA) の生成に対する酢酸 (AcOH) およびプロピオン酸 (PrOH) の促進効果を検討した。[2-¹⁴C] PrOH および [1-¹⁴C] AcOH を含み AA 生合成の前駆体である Leu および Ile を含まない培養液から高い比放射能をもった ¹⁴C-AA が得られた。[1, 2-¹³C₂] AcOH でラベルされた ¹³C-AA の ¹³C-NMR による分析から、3 個の酢酸ユニットが取り込まれていることが明らかになった。AcOH および PrOH は AA 生合成の前駆体の分解の抑制によって AA の生成を促進するらしい。

FUKUSHIMA ら¹⁸⁾は、*A. oryzae* NISL 1913 のケモスタート連続培養において、醤油油のプロテアーゼ生産に対する促進効果を報告した。醤油油が唯一の炭素源として用いられた場合、プロテアーゼ比酵素生産性はでんぷんを炭素源として用いたときの 3 倍であった。またリノレン酸、オレイン酸、ツイーン 80、大豆油では比プロテアーゼ生産性は醤油油とほぼ同じであったが、カプロン酸、酢酸のような炭素鎖が 6 より短い脂肪酸では促進効果を示さなかった。しかし α -アミラーゼのような菌体外酵素の生産を促進しなかったことから、醤油油のプロテアーゼ生産に対する効果は選択的であると考えられた。

福島ら¹⁹⁾は *A. oryzae* の連続液体培養において連続培養の立ち上り時に菌糸の形態変化が起こり、それに伴って攪拌に対する抵抗力が変化することを見出した。すなわち、回分培養終了後の菌糸は太く長く、その後プロテアーゼ比生産速度が上昇するにつれて菌糸が細く短くなった。そしてこの細く短い菌糸の方が攪拌の剪断に対して強かった。両菌糸とも通気中の酸素分圧が高いほど攪拌によるダメージを受けやすかった。連続培養の立ち上り時では攪拌羽根の先端速度を、定常期では溶存酸素濃度を指標にすることにより、200 l 規模で 25 日間にわたる連続培養 (最高 1,800 PU/ml) ができた。

村松ら²⁰⁾は、醤油麹の高温自己消化を低食塩濃度下で行わせ、醤油の旨味の主成分であるグルタミン酸と発酵

基質である還元糖の生成について検討した。食塩無添加の醤油麹の自己消化では全窒素が初めての 24 時間で急速に増大し、2 日ないし 3 日以内に最大となった。グルタミン酸の溶出量は自己消化濃度と食塩濃度の双方の影響を受け、食塩無添加で 45~55°C 消化が最適であった。消化液の食塩濃度が 10%、17% の場合は pH が 4.9~5.2 付近に維持され還元糖は多く溶出した。食塩 0%、5% の場合は pH がこの pH より高くあるいは低かったため還元糖は少ない溶出だった。

特許、実用新案としては、牛島らの「プロトプラスト融合による麹菌の製造法」²¹⁾、「高いプロテアーゼ生産能及び高いグルタミンナーゼ生産能を有する麹菌の育種法」²²⁾、「高いプロテアーゼ生産能及び高いグルタミンナーゼ生産能を有する麹」²³⁾、「糸状菌プロトプラストの製造法」²⁴⁾、石田ら²⁵⁾の「変異型黄麹菌アルカリプロテアーゼ」、横山ら²⁶⁾の「麹菌の育種方法」、中台ら²⁷⁾の「アルカリプロテイナーゼの製造法」、伊藤ら²⁸⁾の「低ホスファターゼ活性のプロテアーゼ液の製造方法」、クリストナーら²⁹⁾の「十分な安定性を有する蛋白質分解酵素の水性液体組成物の製造方法」、平野ら³⁰⁾の「ペプチド製造用酵素剤及びペプチド製造法」、青戸らの「製麹システムの制御方法」³¹⁾、「製麹装置における品温制御方法」³²⁾、「製麹装置における環境制御装置」³³⁾、佐藤らの「製麹装置における麹蓋の培養基排出機構」³⁴⁾、「麹蓋構造」³⁵⁾、「培養基盛り付け機構」³⁶⁾、「自動製麹装置の昇降循環機構における下降制動機構」³⁷⁾、佐々木ら³⁸⁾の「麹の製造法」、佐々木の「醤油麹」³⁹⁾、「醤油の製造法」⁴⁰⁾、藤原⁴¹⁾の「醸造用製麹装置における割れ修正方法」、藤原らの「回転円盤製麹装置等の洗浄装置」⁴²⁾、「製麹用回転円盤型装置の洗浄装置」⁴³⁾、「円盤製麹装置等の円板フレーム」⁴⁴⁾、「回転円盤製麹装置」⁴⁵⁾、「円盤製麹装置等の排出ダンパ」⁴⁶⁾、「麹基質の自動盛込方法及び自動盛込装置」⁴⁷⁾、荒木⁴⁸⁾の「麹室及びその類似構造体を利用した簡易式自動製麹設備」、大屋敷ら⁴⁹⁾の「醸造物中のカルバミド除去方法」、関根らの「固体麹の製造法」⁵⁰⁾、「製麹方法」⁵¹⁾、三木ら⁵²⁾の「醤油麹の製麹方法」、川上ら⁵³⁾の「麹乾燥方法及びその装置」、高松ら⁵⁴⁾の「種麹製造装置」、遠藤ら⁵⁵⁾の「好気性糸状菌の培養法」、福島ら⁵⁶⁾の「糸状菌の連続培養法」、田辺ら⁵⁷⁾の「固体紅麹の濃色化法」、瀬島ら⁵⁸⁾の「漬物床原料」、小島ら^{59,60)}の「動物の排泄物の臭気低減法」、芽原ら⁶¹⁾の「新規麹酸誘導体」、清水⁶²⁾の「加工食品の風味向上方法」などがある。

(3) 乳酸菌、酵母および仕込み、熟成

山本ら⁶³⁾は、着色抑制と品質改良を目的として白醤油醸造の醤油乳酸菌の利用を検討した。白醤油 MJ 培地で

淡色株は発酵最盛期に強い酸化還元電位低下能を示し、乳酸発酵時に培地の着色を強く抑制した。また乳酸菌を添加して醸造した白醤油は多量の乳酸と酢酸の蓄積により pH が低下し、全窒素と L-グルタミン酸が少なかったものの、呈味と保存性が改良され、乳酸菌の添加は淡色化にも効果を示した。

ABE ら⁶⁴⁾は、*Pediococcus halophilus* の野生株 I-13 を親株として 2-デオキシグルコース (2-DG) への耐性株 9R-4 を自然変異により得た。透過性 9R-4 細胞によるホスホエノールピルベート (PEP) 依存性グルコース-6-ホスフェートの生成活性は親株 I-13 の 5% 以下であった。親株 I-13 と、グルコース 取り込み系の一種である PEP: マンノースホスホトランスフェラーゼシステム (man: PTS) に欠陥を持つ自然変異株 9R-4 と X-160 について細胞質画分と膜画分を各々調製し、PEP 依存性 2-DG-6-ホスフェート 生成活性をインビトロ PTS 相補試験により調べたところ、9R-4 および X-160 の膜画分に man: PTS の欠陥が存在し細胞質画分は正常であることが判明した。9R-4 の解糖系酵素活性には異常がなかったことから、man: PTS の膜画分すなわち E II man (enzyme II component of man: PTS) に欠陥があると結論した。また、無処理細胞および IAA (ヨード酢酸) 処理細胞においてグルコース取り込みのカイネティックパラメーターを決定し、野生株 I-13 は高親和性の man: PTS と低親和性のグルコースパーミアアーゼ (GP) の 2 種のグルコース取り込み系が存在すること、man: PTSd 株 (9R-4 と X-160) に残存しているグルコース取り込み系は低親和性の GP であることを確認した。そして醤油乳酸菌の 2-DG 耐性株の man: PTS の E II man 中の欠陥は部分的にグルコース・メディエーターカタボライトリプレッションを解除するが、フルクトース・メディエーターカタボライトリプレッションは解除し得ないと結論した。

樋口ら⁶⁵⁾は醤油関連微生物のエステラーゼ活性を調べた。醤油酵母は他の醸造用酵母に比べ 10 倍以上高い活性を示し、この活性は pH や食塩濃度の影響をあまり受けなかった。*A. oryzae* や *A. sojae* の醤油麴は高いエステル分解活性を示した。麴エステラーゼは諸味中では漸減するが、全諸味過程を通して残存し、酵母発酵時の諸味中では麴由来エステラーゼの方が酵母由来のものより活性が高かった。これら強力なエステラーゼ活性の存在が醤油中にエステル香が低い一つの原因と考えられた。

西田ら⁶⁶⁾は、醤油醸造に使用される酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* S と耐塩性は有さないが通常培地中でこ

れよりも生育速度の速い酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 0708-11-16 A とのプロトプラスト融合を行い、目的とした *Z. rouxii* S より生育速度が速く、かつ同等の耐塩性を有する株が 2 株得られた。最も生育速度が速かった融合株 XB-101 は親株 *Z. rouxii* S と同等の耐塩性および耐糖性を有し、親株 *S. cerevisiae* 0708-11-16 A と同じ薬剤耐性を示したが、*S. cerevisiae* 0708-11-16 A が持つ栄養要求性を示さなかった。各種炭素源の資化能および発酵能については、親株のどちらか一方が資化あるいは発酵できる炭素源を資化あるいは発酵できた。FM 培地中での発酵試験では XB-101 は親株 *Z. rouxii* S より優れたエタノール発酵能および糖の消費を示し、XB-101 を添加し 30 日間発酵を行った諸味の低沸点香気成分の分析で *S. cerevisiae* 0708-11-16 A に由来すると考えられる酪酸エチルが検出された。

SASAKI ら⁶⁷⁾は、本醸造醤油の特徴香気成分である 4-ヒドロキシ-2 (あるいは 5)-エチル-5 (あるいは 2)-メチル-3(2H)-フラノン (HEMF) が酵母によりペントース・リン酸代謝経路を経て生合成されることを明らかにした。同代謝経路上の中間代謝産物リブローズ 5-ホスフェート、キシロース 5-ホスフェート・リボース 5-ホスフェート、セドヘプチュロース 7-ホスフェートなどを醤油酵母の培地に添加することにより HEMF が著量生成した。同様の結果がワイン、清酒、石油酵母についても得られたことから、醤油酵母以外の酵母も HEMF を生産する能力を有することが判明した。

HAMADA ら⁶⁸⁾は、耐塩性醤油酵母 *Z. rouxii* の効率のよい連続培養法を検討した。培養の最適 pH は 5.0 付近であり培地の最適 C/N 比は 16~20 であった。グルコース制限下での培養においては、希釈率の上昇とともに生菌数が増加し、希釈率が 0.06~0.08 h⁻¹ のとき最大の生菌数と生産性が得られた。これらは回分培養の約 5 倍の値であった。しかし得られた菌の発酵力は回分培養および DO (溶存酸素) 制限下での培養で得られた菌に比べ顕著に減少していた。解糖系酵素の活性測定の結果、グルコース制限下での培養ではほとんどの酵素の比活性が後者の 2 つに比べ減少していた。一方、グルコースと DO 制限の境界の条件で培養することにより、グルコース制限下での培養に比較して、ほぼ同じ高いレベルの生菌数が得られ、かつ菌の発酵力もかなり高くなることが明らかとなった。希釈率を変えてもならん支障なく 60 日間の連続培養が続いた。

河東田ら⁶⁹⁾は *Z. rouxii*, IFO-505 を 20% の食塩添加培地と食塩無添加の培地において相互の移し替えを行って細胞壁構成多糖の変化を試験した。それぞれの細胞壁をアルカリ分画した結果、食塩無添加ではアルカリ不溶

多糖画分の収量は高く、マンナンは低かった。食塩無添加のアルカリ不溶多糖画分には、出芽痕に由来するより多くのグルコサミンが存在し、この画分に含まれるグルカンは、20%の食塩添加の場合と比較して、より短い直鎖の β -1,3-グルコシド結合を示した。マンナンの構造は、いずれの場合も α -1,6-結合の主鎖から α -1,2-結合の側鎖が分岐し、その非還元末端側に α -1,2-結合のマンノース残基が1個ないし2個結合していた。マンノース残基が2個結合した側鎖の割合は20%の食塩添加の場合に著しく減少した。

牛尾ら⁷⁰⁾は *Z. rouxii* より分離した絶対好浸透圧性変異株の脂質組成を調べた。30°C以上の高温での増殖に高浸透圧を要求する *Z. rouxii* の一変異株は野生株に比べて遊離のステロールとリノール酸含量が高くオレイン酸含量が低かった。これら脂質含量の特徴と高浸透圧性の表現型は減数分裂において正規分離した。また、牛尾ら⁷¹⁾は、*Z. rouxii* のニスタチン耐性変異株のステロール組成の変化と耐塩性について調べた。エルゴステロール自体とその含量は、ポリオールの菌体内保持や細胞膜を構成する脂質2重層の流動性の調節に重要であり、*Z. rouxii* の耐塩性に深く関わっていると考えられる。

細野⁷²⁾は浸透圧ショックによる *Z. rouxii* からの蛋白質およびUV-吸収物質の漏出をみた。15%の食塩を含むYPD培地で酵母を培養したのち、100 mM NaHCO₃-Na₂CO₃緩衝液(pH 9.0)に移し、30°Cで60分間インキュベートしたところ、多量の蛋白質とUV-吸収物質を細胞外に漏出した。このとき、漏出量は細胞の機械的破砕あるいはアルカリ消化によって細胞外に遊離してくる量の約1/3に達した。このことより、浸透圧ショックにより全菌体蛋白質の約1/3が細胞外に漏出したものと推察された。60分間浸透圧ショック処理した細胞を、再び15%食塩培地で培養したが、生育は認められなかった。また、走査型電子顕微鏡観察によると、浸透圧ショック処理した細胞は処理しない細胞に比べて、形状が小型で、表面にしわが寄っていた。

青木ら⁷³⁾は *Z. rouxii* のメチルアンモニウム(MA)吸収に対する食塩の阻害効果をみた。食塩無添加培地で生育した *Z. rouxii* は取り込み検討培地でアンモニアのアナログであるMAの取り込みを食塩により阻害された。この阻害は食塩15%までは食塩濃度に比例した。*Saccharomyces cerevisiae* では食塩培地で生育した *Z. rouxii* 同様、食塩存在下でも高いMA取り込みとNH₃の消費がみられた。食塩存在下で生育した *Z. rouxii* は高いV_{max}値のMA取り込み系を有していた。食塩存在下でも旺盛な生育をするためNH₃の取り込み系があると思われる。V_{max}増加のメカニズムを明らかに

にしようとしたがMAおよびNH₃の取り込みの新しい系が食塩により誘導されるのかどうかは不明である。

青木ら⁷⁴⁾は *Z. rouxii* におけるアミノ酸取り込み減少変異株の高級アルコール(イソブチルアルコール、イソアミルアルコール(*i*-AmOH)、2-フェニールエタノール(2PE))生成の変化をみた。高級アルコール類は醤油の重要な香気成分であり醸造過程で酵母により造られる。高アミノ酸天然培地において高級アルコール生成の大部分を占めていると推測されるアミノ酸起源の高級アルコール生成の制御を目的として、アミノ酸取り込み変異株をアンモニウムと α -フルオロ-DL-フェニールアラニン(FPA)100 μ g/mlを含む最小培地プレートにおいてFPA耐性株として選択した。そのうちの1つFPA16は、複数のアミノ酸取り込みを減少させていた。高アミノ酸天然培地においてFPA16は野生株の9%の2PE、34%の*i*-AmOHしか生成しなかった。また、培地中のフェニールアラニンとロイシンの消費は野生株に比べ著しく減少していた。そのため、この変異株は前駆体となるアミノ酸の取り込みの減少により高級アルコール生成量が減少していると推測された。

青木ら⁷⁵⁾は *Z. rouxii* MA^r1を親株として、L-エチオニンの耐性で選択した変異株は、高アミノ酸天然培地でいずれもメチオールを高生成した。その一株M33は、メチオニンを含まない最小培地においてもメチオノールを親株の60倍生成した。その際菌体内メチオニン蓄積は親株の5倍に増加していた。本M33株のS-アデノシルメチオニン(SAM)合成酵素活性は親株の45%に減少し、菌体内SAMレベルの低下が観察された。一方、メチオニン生合成系のホモシステイン合成酵素およびCysH合成酵素の活性は、培地中メチオニンによる抑制より解除されていることが判明した。SAM合成酵素不全による菌体内SAMレベルの低下とこれによるメチオニン生合成酵素系の脱抑制が本菌における菌体内メチオニンの高合成、したがって、メチオノール高生成の原因であると推定した。

小堀ら⁷⁶⁾はポリエチレングリコール(PEG)と電気融合法の2つのプロトプラスト融合法を用いて、不完全酵母 *Candida* 属の類縁関係の隔たった2種類の親株から異種間細胞融合体を得ることを試みた。親株として*n*-アルカン資化性酵母 *C. tropicalis* (His⁻, Met⁻)と、メタノール資化性酵母 *C. boidinii* (Arg⁻)を用いた。PEGによる融合法には蒸気滅菌PEGまたは濾過滅菌PEGを用いた。いずれの方法も両親株プロトプラスト(約10⁸)を混合後、10 mM CaCl₂、0.8 M ソルビトール含有PEG 6000で30分、30°Cにて融合処理を行った。融合頻度は、濾過滅菌PEG法で1.5 \times 10⁻⁴と最も高い値が

得られ、電気融合法、蒸気滅菌法では各々 9.2×10^{-7} 、 3.1×10^{-7} であった。融合株の安定性、染色体電気泳動法による核型の解析、走査電顕による形態学的解析および生理学的性質について検討した。融合株の性質は *C. boidinii* 株との類似性が高いが、*C. tropicalis* 株の性質の一部も取り込んだものであると結論した。

安井ら⁷⁷⁾は淡口醤油の発酵熟成工程の諸味の色調を諸味管理の面から検討し、発酵熟成工程において、淡色で ΔA の高い醤油を得る条件として高食塩仕込みおよび低 pH での諸味管理が有効であることを見出した。また諸味中での乳酸菌、酵母の旺盛な活動も ΔA を高めた。

三島ら⁷⁸⁾は誘電測定法による酵母濃度のオンライン計測を行うため培養槽内挿入型センサーおよび壁面装着型センサーを試作した。このセンサーで酵母バッチ培養中の電気容量を測定したところ誘導期、対数期、死滅期に至る典型的な増殖曲線が得られた。また、誘電測定法とコロニー計数法、乾燥重量法により算出した細胞濃度との関係を解析したところ良い相関関係が得られ、この計測法が基本的には生細胞濃度を測定する方法であることが示された。

関連する特許、実用新案として、阿部ら⁷⁹⁾の「新規変異株」、高田⁸⁰⁾の「醸造食品の製造方法」、バジラチヤら⁸¹⁾の「醤油の製造方法」、渡辺⁸²⁾の「醸造タンク用酸化防止蓋」、鎌田ら⁸³⁾の「酵母の処理方法」、鈴木ら⁸⁴⁾の「産膜酵母の増殖防止方法および装置」、沼田⁸⁵⁾の「酵母製品とその製造方法」、小泉⁸⁶⁾の「耐塩性乳酸菌と酵母菌によって発酵過程を採り入れた焼肉のための製造法」、大沢ら⁸⁷⁾の「発酵諸味中の糖およびアルコールの定量法」、古賀ら⁸⁸⁾の「醤油諸味の加温冷却装置」などがある。

(4) 圧搾、火入れ、製成

栗村ら⁸⁹⁾は淡口醤油の製成工程中の醤油の色の濃化と色調変化について検討した。高温火入れほど着色量当たりの ΔA の上昇が大きかった。また火入れにより ΔA の上昇した醤油は、ポンプ移送などで空気と接触することにより速やかに ΔA が低下した。

関連する特許としては、藤原らの「醸造用諸味充填装置」⁹⁰⁾、「醸造用諸味充填装置におけるケーシング昇降装置」⁹¹⁾、五明ら⁹²⁾の「醤油の火入迄の処理方法」、地蔵ら⁹³⁾の「火入醤油の処理方法」、加藤⁹⁴⁾の「液体食品の滅菌装置」、飯塚ら⁹⁵⁾の「醤油の火入迄の処理方法」などがある。

(5) 成分、分析法

木原⁹⁶⁾は、イソフラボン配糖体の加水分解状況を醤油

と味噌について調べ、醤油系においては製麴中に 40% が、仕込み・発酵過程を経て圧搾粕では 80% まで分解されていたことを明らかにした。

木原⁹⁷⁾は、醤油が老化(劣化)すると蛍光性分解物を生成し、その分解物の数は経過年数とともに増加すると報告した。

佐々木ら⁹⁸⁾は、日本の本醸造醤油の香りの探求の歴史を紹介し、香味成分と微生物の関わりについて考察を加えた。さらに醤油の特徴香味成分 HEMF が酵母により生産されること、また香味成分と品質の関係の統計的手法による解析の結果を紹介した。

大下ら⁹⁹⁾は、醤油中から変異原活性を有する β -カルボリン誘導体化合物 I を分離し、その構造を 1-(5-ヒドロキシメチル 2-フリル)9H-ピリド[3,4 b] インドール(1-ヒドロキシメチルフリル- β -カルボリン)と決定した。その変異原活性は、TA 100 株、S9 非存在下で亜硝酸未処理時の活性は 2 His+復帰株/ μg で、亜硝酸処理時の活性は 15 His+復帰株/ μg であった。I は本醸造醤油中で 2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、新式醸造では 0.79 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、アミノ酸液混合では 0.38 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。いずれの醤油でも加熱により I の含有量は約 2 倍に増加したと報告した。

飯田ら¹⁰⁰⁾は、簡便にしかも正確に醤油色番が求められる光学装置(色番計)の試作を行った。標準色より求めた色番(目視法)、分光光度計により求めた真の色番との比較を行い、精度を検定し、実用上満足できる結果を得た。また検体に 20 ppm 程度の濁りがあっても正確に測定できることを示した。

鈴木ら¹⁰¹⁾は、ホールピペットを用いずに試料 1 ml を正確に採取する自動採取方法を確立し、装置を開発した。この装置は試料の粘度を選ばず、短時間でしかもホールピペットを用いるより精度よく試料を採取できた。

小林ら¹⁰²⁾は、近赤外分光分析における醤油中のいくつかの成分の自動分析システムの開発を行った。食塩、総窒素、アルコール、乳酸、グルタミン酸、グルコースの 6 成分は約 3 分で同時に分析でき、その分析精度も高く、管理分析への応用が可能であることを示した。

飯塚ら¹⁰³⁾は、近赤外分光計により醤油中の窒素成分を分析し精度よく測定できることを示した。その回帰式に使用されている波長は、アミノ酸、ペプチドに関する波長以外のものが多いことも判明した。また得られた吸光度をもとに判別分析を実施し、本醸造醤油と新式醤油の判別が 100% 可能であることも示した。

大井ら¹⁰⁴⁾は、酸素循環燃焼と熱伝導(TCD)ガスクロマトグラフを組み合わせた乾式燃焼法による高感度窒素・炭素自動分析装置の概要を紹介し、醤油を含む食品の実際の分析例を示した。

石田ら¹⁰⁵⁾は²³Na-NMR イメージング用プローブを開発し、濃度および運動性の異なるナトリウムを含む模擬資料（ファントム）を用いて、画像の分布および緩和時間の検討を行った。得られたイメージングの画像の空間分解能は、0.8 mm×0.8 mm、厚さ 8 mm (5.12 mm³) であった。得られたシグナルの強度はナトリウムの濃度に比例していたが、その運動性に強く影響を受けていた。つまりエコータイム 36 msec というこの装置の測定条件は、ほぼナトリウムの緩和時間に等しく、短い緩和時間をもつ試料では測定が困難であった。エコータイムを 10 msec まで短くできれば、短い緩和時間のものでこのプローブで測定できると考えられた。うめぼし、きゅうりの味噌漬けといった食品についてナトリウムの分布の測定を行った。ナトリウムの分布地図は¹H-NMR イメージングとは異なった情報を与えるものであった。²³Na-NMR イメージングは、貯蔵および加工中における食品品質のモニターとして有用な手段であると考えられた。

特許としては、菱本ら¹⁰⁶⁾の「食品の呈味評価方法および呈味評価装置」、八尾ら¹⁰⁷⁾の「食品の呈味成分測定方法及び測定装置」などがある。

(6) 容器, 加工, 調味料

高島¹⁰⁸⁾は醤油、めんつゆ類の業務用 (1.8 l 以上) 包装問題について解説した。1.8 l 容把手付き PVC ボトル、9~20 l 容のスチール缶、10~20 l 容のプラスチック缶、10~20 l 容のバックインボックスがあるが、めんつゆ類では 1.8 l 容把手付き PVC ボトルやスチール缶が主流で、バックインボックス形態のもの取り組みが進んでいる。醤油の場合、コンテナや大型タンクローリー車による大口搬送扱量が増加傾向にある。また、低塩化、希釈倍率低レベル傾向の中で熱充填システムによる無菌化の促進が技術的主要テーマとなってきており、耐熱性包装素材の一層の質的改良が待たれるとしている。

醤油の賞味期間測定委員会¹⁰⁹⁾は、日本醤油協会より醤油の賞味期間測定試験の依頼を受け、3年半の保存試験を行った。官能検査および色の变化等から次表に示す

醤油の賞味期間

種 類	プラスチックボトル	ガラスびん
こいくち	18ヵ月	36ヵ月
うすくち	12	24
たまり	24	38
さいしこみ	24	38
し ろ	—	8

賞味期間を答申した。

山中ら¹¹⁰⁾は、醤油の品質の改善や向上を目的として、MF 膜、UF 膜、RO 膜を用いて生醤油と火入れ醤油を処理し、透過流束、膜の洗浄回復性、成分変化、貯蔵による変化などについて検討した。透過流束は火入れ醤油、生醤油ともに膜の孔径が大きいくほど増加がみられた。膜の洗浄回復性は 0.1% の NaOH を使用した場合、MF 膜の回復率が UF 膜よりも低かった。MF 膜処理においては、総窒素、塩、糖、色素、酵素活性などの成分はほとんど変化が認められず、処理液は清澄化され雑味除去により風味は向上した。微生物は、NTF 5202 (孔径 0.2 μm) を使用することによりほぼ完全に除菌でき、30°C 6 ヶ月間の貯蔵においてオリの発生を防止できたが、生醤油については残存する酵素によって貯蔵中に大きく変化する恐れがあった。UF 膜処理においては、醤油は清澄になり淡色化し、貯蔵によるオリの発生は防止できた。生醤油の α-アミラーゼ活性はコントロールの約 5% まで低下した。総窒素の減少はわずかであったが旨味が低下した。RO 膜処理においては、色調ははっきりと淡色化し総窒素は 80% に減少した。味は塩味が増し旨味が乏しくなった。

柄倉ら¹¹¹⁾はアルコール発酵を活用する食品の製造として蛋白質からの無塩ペプチドの生産を報告している。大豆と小麦からなる麴を磨碎し酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) が 10⁵ 個/g、グルコースが 10% になるように添加し、22°C で醸造した。添加したグルコースは速やかに消費され、発酵 5 日目には約 4% のアルコールが生成した。発酵初期において混入した細菌の生菌数は 4.8 × 10⁵ 個/g であったが発酵 30 日目には約 10³ 個/g まで減少した。グルタミン酸とアミノ酸の収量はエタノール添加法に比べ少し優り、食塩添加法 (従来法) に比べかなり優った。グルコースの代わりにでんぷんを大豆の代わりに麴を用いても良好な結果だった。

土居ら¹¹²⁾は鯉節のかび付けに使用する 11 種類の *Aspergillus* 属による合成抗酸化剤ブチル-ハイドロキシアニソール (BHA) の分解について検討した。培地中に添加した 50 ppm の BHA は 3~4 週間で完全に分解され、*A. repens* の分解能力が高かった。BHA を添加した煮干しにかび付けし BHA の分解を調べたところ、1 ヶ月で 43 ppm から 25 ppm に減少した。また、かび付けにより呈味成分であるアミノ酸および核酸関連物質の減少がみられた。

杉山ら¹¹³⁾はいわし魚粉をアルカリプロテアーゼで部加水分解し、水溶性で消化性の優れた魚蛋白加水分解物 (FPH) を得、アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害作用を検討した。FPH はゲル濾過画分全体にわた

って ACE 阻害活性を示し活性を有するペプチドは分子量的に広がった。FPH を高血圧自然発症ラット (SHR) に対し 2 g 蛋白質/kg を経口投与したところ明瞭な血圧降下作用を示した。FPH 配合飼料は、市販飼料に比べて脳卒中易発症性 SHR の血圧上昇抑制および生存率において優れていた。

受田ら¹⁴⁴⁾はいわしの蛋白質を加熱処理し、プロテアーゼで加水分解した分解液 (P-1) より ACE 阻害ペプチドを得た。用いるプロテアーゼとしてはペプシン、トリプシン、キモトリプシン、デナチーム APのうちペプシンが最良であった。プロテアーゼ処理の前に加熱処理すると効果があった。P-1 を ODS カラムで一段階精製することにより高い ACE 阻害活性を有するペプチドを得た。このペプチドをラットへ静脈注射したところアンジオテンシン I による血圧上昇を明らかに抑制した。受田ら¹⁴⁵⁾はまた、魚肉を酵素で分解する際のモニタリング法としてグルタルアルデヒドによるアミノ基の定量法を報告している。従来の Brix や総窒素を測定する方法より測定時間も速く有用であるとしている。

高島¹⁴⁶⁾は醤油の種類が多様化について分析値を示しながら解説し、さらに醤油周辺調味料についても言及し、分析例を紹介した。

齊藤¹⁴⁷⁾は最近めんつゆの品質の傾向を、生産量の推移、JAS 格付状況、JAS 格付検査の結果などから解説した。

関連する特許としては、真崎の「液体食品の製造方法」¹¹⁸⁾、「食品製造方法」¹¹⁹⁾と「液体食品の製造方法」¹²⁰⁾、新海ら¹²¹⁾の「だし素材入り液体だしパック」、木島ら¹²²⁾の「熱詰飲食品の微生物的安全性の確認方法」、中村¹²³⁾の「黄色調味液および着味着色方法」、高橋¹²⁴⁾の「加熱調理済み食品の味付け加工方法」、川上¹²⁵⁾の「低塩分淡口醤油の製造方法」、安東ら¹²⁶⁾の「キトサン醤油の製造法」、武内¹²⁷⁾の「しょう油の加工方法」、中村ら¹²⁸⁾の「呈味改善法」、奥村ら¹²⁹⁾の「濃厚加熱調理フレーバーの製法」、染谷ら¹³⁰⁾の「濃色醤油の製造方法」、相島ら¹³¹⁾の「香気成分の濃縮方法」、大塚ら¹³²⁾の「フレーバーの保持方法」、大久保ら¹³³⁾の「醤油粕から食品素材の製造法」、福山ら¹³⁴⁾の「健康補完型加工食品」、中園¹³⁵⁾の「醤油の製法」、浜野ら¹³⁵⁾の「醤油の製造法」、北倉らの「アミノ酸の処理法」¹³⁶⁾と「醤油の製造法」¹³⁷⁾、中園¹³⁸⁾の「醤油の製法」、野崎ら¹³⁹⁾の「食品保存剤」、小泉の「生醤油又は醤油諸味を用いて動物性蛋白質及び魚介類の蛋白成分を分解する方法」¹⁴⁰⁾と「ソイ・ドレッシングの製造法」¹⁴¹⁾、田中¹⁴²⁾の「焼き鳥用たれの製造法」、島田ら¹⁴³⁾の「新豆腐用調味料」、粕谷¹⁴⁴⁾の「麴つゆの製造方法」、武内¹⁴⁵⁾の「削り節の製造方法」、深見ら¹⁴⁶⁾の「だ

し調味料及びその製造法」、外山¹⁴⁷⁾の「だし汁の製法」、伊藤ら¹⁴⁸⁾の「つゆ製造方法」、新海ら¹⁴⁹⁾の「だし液の抽出方法」、伊藤らの「だし等の成分抽出装置」¹⁵⁰⁾と「だし等の成分抽出・充填方法」¹⁵¹⁾、奥村らの「魚節だしフレーバー」¹⁵²⁾と「風味の優れた魚節だしフレーバー」¹⁵³⁾、山本ら¹⁵⁴⁾の「魚紅麴およびこれを利用した発酵調味料の製造方法」、富永¹⁵⁵⁾の「魚介類から得られる調味料」、松下ら¹⁵⁶⁾の「魚介類を用いた好呈味食品素材の製造法」、内藤¹⁵⁷⁾の「魚醤油の製造法及び魚醤油」、鈴木¹⁵⁸⁾の「塩味調味料及び製造方法」、森田ら¹⁵⁹⁾の「ペプチド組成物」、大谷ら¹⁶⁰⁾の「調味エキスの製造方法」、和木ら¹⁶¹⁾の「調味液の製造方法」、溝淵¹⁶²⁾の「調味料原液の製造方法」、矢崎¹⁶³⁾の「新調味料の製造方法」、飯田ら¹⁶⁴⁾の「食品加工用調味液」、鈴木ら¹⁶⁵⁾の「泡状調味料、起泡性調味料組成液及びその製造法」、山際ら¹⁶⁶⁾の「米菓の製造法」、内田ら¹⁶⁷⁾の「流動状乃至液状食品の製造方法」、日野¹⁶⁸⁾の「もろみたらこの製法」、矢野¹⁶⁹⁾の「発酵調味料」、杉本¹⁷⁰⁾の「わさび醤油漬けの製造方法」、赤井¹⁷¹⁾の「塩味調味料」、篠崎¹⁷²⁾の「大豆蒸煮液を原料とする液体納豆飲料、粉末納豆の製造法」、原田ら¹⁷³⁾の「酒精含有甘味調味料の製造法」、大堀ら¹⁷⁴⁾の「膜法によるスティクウォーターからの天然調味料の製造方法」、前田ら¹⁷⁵⁾の「液体調味料」、岩田ら¹⁷⁶⁾の「醸造用原料並びに発酵調味料の製造法」、川上¹⁷⁷⁾の「発酵調味料成分の分画方法」、澄川ら¹⁷⁸⁾の「低分子ペプチド混合物の製造方法」、クウオンら¹⁷⁹⁾の「酵素加水分解蛋白の苦味除去方法」、木本ら¹⁸⁰⁾の「大豆ホエーペプチド混合物の製造法」、本井ら¹⁸¹⁾の「加水分解グルテンの製造法」、ハムら¹⁸²⁾の「加水分解された植物蛋白質の製造方法及びこれから得られた生成物」、フランシスカスラ¹⁸³⁾の「蛋白加水分解物およびその製造法」、西村ら¹⁸⁴⁾の「調味液の製造法」、大塚ら¹⁸⁵⁾の「保存性の良好な調味料素材の製造法」、小手川¹⁸⁶⁾の「無塩濃厚粉末調味料の製造法」、圧口¹⁸⁷⁾の「調味食品の製造方法」、赤井¹⁸⁸⁾の「調味料」、バニックら¹⁸⁹⁾の「改良された塩代用粒剤」、石黒らの「調味塩」^{190~192)}と「調味塩の製造方法」¹⁹³⁾、菅ら¹⁹⁴⁾の「天然飲料の製造法」などがある。

(7) バイオリクター、その他

HAMADA ら¹⁹⁵⁾はバイオリクターを用いて醤油の連続生産を試みた。固定化グルタミナーゼおよび *Pediococcus halophilus*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida versatilis* 固定化菌体を用いた。グルタミン酸の生成および乳酸、アルコール発酵はトラブルなく 100 日以上良好に続いた。バイオリクターによれば醤油製造に要する日数は従来法に比べ 1/10 に短縮される。バイオリ

アクターで作った醤油は成分組成において従来の醤油と同じでありまた香りの質も違いは認められなかった。

堀津ら¹⁹⁶⁾はビーズ状セラミックス担体に醤油酵母 *Z. rouxii* および *C. versatilis* を吸着固定化したバイオリアクターを用いることにより醤油の発酵を6日間にまで短縮することができた。

岩崎ら¹⁹⁷⁾は醤油の生産性を改善するために、固定化醤油酵母を用いてエタノール発酵を連続的に行った。気孔を制御したアルミナセラミックス中に醤油酵母を物理的に固定化し、醤油調味液のエタノール発酵を行った。エタノール濃度は希釈率によって制御され、容積当たりの生産速度は希釈率に依存し、回分発酵におけるそれより高かった。エタノール生産性を物質収支と反応速度の基礎方程式によってモデル化し、シミュレーションした結果は実験結果と良く一致した。このリアクターシステムによれば高い生産速度でエタノールを生産でき、短期間で醤油の製造に有効であることが認められた。岩崎ら¹⁹⁸⁾はさらに精密濾過膜と発酵槽を同時に使用して醤油調味液の連続エタノール発酵を行った。遊離の醤油酵母は阻止率 0.99 以上システム内に保持された。保持液と透過液中のグルコースとエタノール濃度は物質収支から数学的にモデル化し、シミュレートした結果は実験結果と良く一致した。エタノール濃度は希釈率に依存し、膜間差圧を 1 kPa とした場合最も高いエタノール濃度が得られ、そのときのエタノール生産性は、回分発酵、固定化酵母の場合より数倍高かった。

小澤¹⁹⁹⁾は、バイオリアクターシステムによる「たまり様調味液」の製造技術について解説し、さらにアルコール発酵に必要なグルコースとアルコール測定用のバイオセンサーとパソコンから構成される「バイオセンサーシステム」についても概説した。

崔ら²⁰⁰⁾は固定化生体触媒としての麹菌 *A. oryzae* の細胞壁画分結合型酵素 (CWEs) の性質を調べた。麹菌の細胞表面には多くの酵素が局在しているがプロテアーゼに着目し、固定化酵素としての可能性を検討した。細胞壁画分には酸性プロテアーゼ (APase)、酸性カルボキシペプチダーゼ (ACPase) とグルタミンナーゼなどの複合酵素系が結合されていた。APase と ACPase の最適 pH はそれぞれ 2.3 と 3.0 であり、最適温度はいずれも約 50°C であった。この CWEs はバイオリアクターに適した固定化酵素系として期待される。崔ら²⁰¹⁾はさらに、この CWEs を用いて、基質をカゼインとしてその複合酵素分解を行った。寒天ゲルで包括した CWEs を用いて実験室規模でバイオリアクター運転を行い、カゼイン分解物の分析を LOWRY らの改良法、ニンヒドリン、オルソフタルジアルデヒド(OPA)法、SDS-PAGE、HPLC

で分析した。加水分解度は 48 時間運転でピークに達した。高分子基質のカゼインはバイオリアクター反応 12, 24, 48 時間でそれぞれ全カゼインの 59%, 95%, 100% が分解され、特にペプチド (分子量 200~2,000) は著しく増加した。固定化 CWEs は 9 回の反復使用時においても原活性の 50% を維持した。これらの結果から、固定化 CWEs は固定化酵素と固定化微生物のそれぞれの長所を生かした新しいタイプの固定化生体触媒であることが示唆された。固定化 CWEs は、高分子基質を固定化酵素系で分解できる可能性を示唆した。

枝広ら²⁰²⁾は、生揚醤油中での甘味料ステビオサイドの分解は醤油中の酵素の作用によるものであることを見出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製単離し ¹³C-FT-NMR および FT-IR から、その構造をルブソサイドと決定した。また同様にアルカリ加水分解物も単離してステビオールモノサイドであることを確認した。そして生揚醤油中におけるステビオサイドの分解はソホロース部の β-1, 2-結合を特異的に加水分解するものであると結論した。また、枝広ら²⁰³⁾は、*Bacillus macerans* アミラーゼ (BMA) によるステビオサイドへの酵素的糖転移を行い 3 種類の生成物を得て、酵素的化学的加水分解、¹³C-NMR によりその構造を検討した。これらの糖転移ステビオサイドは生揚醤油中でルブソサイドに分解された。

奥田ら²⁰⁴⁾は、醤油と食酢の肉の物性に対する調理効果を検討した。醤油については濃口、淡口、たまり、濃口うす塩、濃口減塩、白醤油を用い、冷凍鯨肉または鰯肉で浸漬 (20°C, 30 分) および煮沸 (沸騰後 30 分) の方法で、水分含有率、重量などを試験した。重量は食塩およびグルコースがある一定濃度以上になると、水分含有率の減少により低下するが、これはエキス濃度がある一定濃度以上になると起こる現象であり、重量は固形分すなわちエキス濃度によって支配されていることを示した。また調理との関連では、食塩約 6% において水分含有率および重量が最も高く、この濃度では淡口、濃口、たまり、減塩の順で低くなった。これは、食塩 6% 程度でしかも食塩に対する総窒素や還元糖の比率が低い方が好ましいことを示している。自身魚の煮つけでは淡口醤油が、背の青い魚では濃口醤油が適しており、食塩に対するエキス濃度の高いうす塩、減塩醤油は煮つけには好ましくないと考えられる。

BENJAMIN ら²⁰⁵⁾は日本の醸造醤油が抗発ガン性をもっていることを示した。雌の ICR マウスに醤油 (0~30%) を含む半精製飼料を与え、2 週間後に、前胃の腫瘍をイニシエートするためにベンゾ (a) ピレンを 4 回 (1 週間に 1 回の割合で 4 週間) 経口投与した。最初の

投与から 23 週間後に動物を屠殺して前胃の腫瘍の数をカウントし組織学的にも検討した。醤油は前胃の腫瘍数を用量依存性をもって有意に減少させ、その効果は醤油が飼料に 20% 含まれているとき最大となった。飲料水に亜硝酸を 0~500 ppm 添加して与えても醤油の抗発ガン性効果は増加も減少もしなかった。醤油には抗酸化性のあることがわかっているが、それが上記の抗発ガン性効果に関係がある可能性がある。また予想に反してマウスのオルニチン脱炭酸酵素が醤油によって誘導された。これは、一部、醤油の比較的高い食塩含量によるものと思われる。

NAGAHARA ら²⁰⁶⁾は亜硝酸と前処理した醤油の変異原性を検討した。2,300 ppm の亜硝酸で前処理した醤油はチャイニーズ・ハムスター線維芽細胞株を用いたインビトロ染色体異常試験で、S9 添加または無添加いずれの場合にも未処理の醤油そのものにより誘発される弱い染色体異常を示さなかった。醤油そのものにより誘発される弱い染色体異常は、醤油中の 17% の食塩によるものと思われる。インビボ小核試験を実施するにあたり、2,300 ppm の亜硝酸で前処理した醤油または未処理の醤油を、14 ml/kg 量、ICR マウスに単回経口投与あるいは 6 ml/kg 5 日間連続経口投与した。これらの投与によるインビボ小核試験で、小核を持つ多染性赤血球の出現は有意に増加しなかった。ほ乳動物またはその細胞を用いた今回の試験で亜硝酸処理した醤油に変異原性がないことが証明された。また、NAGAHARA ら²⁰⁷⁾は、醤油中に存在することが知られ単独で亜硝酸処理すると変異原性を生ずることが知られている 1-メチル-1,2,3,4-テトラヒドロ- β -カルボリン-3-カルボン酸の 2 つの立体異性体 (MTCAs) を ^{14}C でラベルし、ラットに経口投与してその排泄と体内分布を調べた。また、試験管内で亜硝酸処理した [^{14}C] MTCAs の反応物をラットに経口投与し比較検討した。未処理の [^{14}C] MTCAs をラットに投与した場合、 ^{14}C のほとんどは 24 時間以内に糞中に排泄され、ラットの全身オートラジオグラムでは投与して 30 分および 6 時間後小腸内のみ認められた。対照的に、亜硝酸処理した [^{14}C] MTCAs をラットに投与した場合、 ^{14}C は 24 時間以内に主に尿中に排泄され全身オートラジオグラムでは小腸内だけではなく肝臓と腎臓にも認められた。これらの結果から、MTCAs の大部分は胃腸管を速やかに通過するが、亜硝酸と [^{14}C] MTCAs の反応生成物の大部分は胃腸管から吸収され尿中へ排泄されることが示された。

玉岡ら²⁰⁸⁾はメイラード反応に対する圧力効果を検討するため、初期反応であるアミノ基とアルデヒド基の縮合反応と褐色化反応について調べた。縮合反応に対して

圧力はある程度の抑制効果を示すかほとんど影響しなかった。一方、褐色化反応は 200 MPa の加圧により著しく抑制され、活性化体積は正の大きな値を示した。この結果、圧力はメイラード反応において縮合反応よりも、それ以後の褐色化反応に対して抑制効果を示すことを明らかにした。

寺沢ら²⁰⁹⁾はグルコース・グリシン系の非透析性メラノイジンを、銅キレート剤セファロース 6B カラムを用い、pH グラジェントで 6 成分に分画した。この画分の銅キレート能、UV-VIS スペクトル、解離定数 (K_d)、分子量、等電点を測定した。銅を最も多くキレートしているメラノイジンは pI 2.7 の成分であった。

西堀ら²¹⁰⁾はクッキーにおけるフレーバー生成のモデル実験としてフラクトースと β -アラニン を 150°C で 2 分間加熱し生成物を調べた。既報の 2,3-ジヒドロ-3,5-ジヒドロキシ-6-メチル-4H-ピラン-4-オン (DDMP) と 5-ヒドロキシメチルフルフラールの他に 2,3-ジヒドロ-3,4-ジヒドロキシ-5-アセチルフラン (DDAF) を新たに同定した。

早瀬ら²¹¹⁾は蛋白質のグルコース (Glc) やフラクトース (Fru) による重合には 3-デオキシングロソ (3 DG) が重要なクロスリンカーであろうと推察されるが、この報告ではアミノグアニジンおよびセミカルバジドによるメイラード反応における蛋白質の重合抑制作用を調べた。リゾチーム (Lyso) を Glc あるいは Fru と pH 7.4, 50°C で反応させ、この反応系に種々の 3 DG 反応性の低分子化合物を添加し、重合抑制率を調べた。2,3-ジアミノプロピオン酸、グルタチオン、アミノグアニジン (AG)、セミカルバジド (SC) は特に重合抑制率が高かった。200 mM AG, 100 mM 以上の SC の添加により Lyso-Glc および Fru 系の Lyso の重合が完全に抑制された。AG はリジンの損傷とフロソンの生成は抑制せず、3 DG の生成を抑制することから、AG はメイラード反応の後期段階、とくに 3 DG を捕捉することにより特異的に抑制すると推察した。一方 SC の場合、前期および後期段階を抑制すると考えられた。

チュエンら²¹²⁾は成長ラットまたは成熟ラットに対するグルコースで修飾された数種カゼインの栄養生理を調べた。修飾は 50°C, RH 75% で 1 日 (CG-1), 同 7 日 (CG-7), 同 14 日 (CG-14) および水溶液状態で 95°C 加熱 (CG-95) で行った。これら修飾カゼインに損傷されたアミノ酸を補足した後、ラットに与えた。実験群と対照群との間にヘマトクリット、赤血球数、白血球数、GOT, GPT, 中性脂肪、コレステロールについては有意差がなかったが実験群では血糖値が有意に低下した。また、修飾されたカゼインには成長抑制作用がみられそれ

は修飾程度が大きいくほど強かった。カゼインとグルコースの反応物を透析しない方が成長抑制作用が強かった。カゼインがグルコースで修飾される過程で抗栄養の因子が生成されるらしい。

金子ら²¹³⁾は脂質酸化時の主要な 2 次生成物であるヘキサナールと *N*α-アセチルトリプトファン (Ac-Trp) との反応により、Ac-Trp 間にヘキサナールに由来する架橋が形成される。この反応を *N*α-アセチルリジン (Ac-Lys) の存在下で行った結果、すでにヘキサナールと Ac-Trp のみとの反応で生成が確認されている 3 種の Ac-Trp の架橋物質以外に架橋形成の中間体と考えられる *N*α-アセチル-1 (1-ヒドロキシヘキシル) トリプトファン (Trp-HL-4) が新たに主要生成物として同定された。Ac-Trp とヘキサナールとの反応による架橋物質の褐変反応を経時的に調べた結果、これらの物質がヘキサナールとの反応による蛋白質の褐変に関与していることが示唆された。

森田ら²¹⁴⁾は D-フラクトース 6-リン酸とスクレオチドあるいは DNA を緩衝液中、37°C で反応させたところ、300~400 nm の吸光度の増大と蛍光の増大 (Ex 300~320 nm, Em 420~440) が認められた。この蛍光の生成はアミノグアニジン、シアンホウ素ナトリウムの添加で抑えられ、DETAPAC, クエン酸, デスフェラルなどの金属キレート剤の添加でも抑えられた。また SOD, カタラーゼの添加でも抑えられた。これは DNA の第一級アミノ基とケトースとの間にメイラード反応が起こること、また蛍光物質の生成に酸素ラジカルの関与する過程のあることを示している。

森²¹⁵⁾は、1990 年秋に訪問した米国農務省 NRRC の組織と研究内容を紹介するとともに、醤油、味噌醸造微生物の最近の話題について分類と育種を中心に紹介した。

宗ら²¹⁶⁾は最近の中国の醤油製造技術の進歩について解説した。

並木²¹⁷⁾は醤油の輸出検査制度、輸出検査基準や醤油輸出状況等について解説した。

広瀬²¹⁸⁾は、JAS の格付から最近の醤油の品質の傾向を解説した。

志村²¹⁹⁾は日本醤油研究所が行った「食品産業加工・包装機械等ニーズ事業」の報告書をもとに醤油製造設備の現状と改良点について考察、解説した。

浜野ら²²⁰⁾は、生醤油製品の開発経緯と製造技術ならびに特性について、生醤油と火入醤油の味、香りの差や生醤油中に残存する酵素の作用などを、事例を紹介しながら解説し、膜処理工程を含めて今後の課題にも触れた。

林²²¹⁾は米国、EC の食品添加物法規制を我が国の規制と比較しながら概説した。

真鍋^{222,223)}は、発酵食品とマイコトキシンとの関連について、個々のマイコトキシンを論じながら、詳説した。

特許としては、赤尾ら²²⁴⁾の「発酵方法」、佐々木ら²²⁵⁾の「調味液の製造法」、草場ら²²⁶⁾の「醤油様調味液の製造法」などがある。

おわりに臨み、種々ご助言くださいました、元キッコーマン(株)森 治彦博士に感謝いたします。

橋場弘長・布村伸武

〈キッコーマン(株)研究本部〉

II. 味噌に関する研究

(1) 原料および原料処理

平¹⁾は、味噌原料としての国産大豆の品質特性を明らかにし、品質の変動とその要因について解説した。味噌の加工では品種の選択が重要なポイントとなり、またその栽培条件も味噌の呈味や色調に影響を与えることを示した。

工藤ら²⁾は *Aspergillus oryzae* KO-2 が生産する大豆サポニン分解酵素の精製を行い、その諸性質について検討した。培養液を硫酸分画およびセフアデックス G-200 ゲル濾過により約 1,500 倍に精製し電気泳動的に単一とした。この酵素は分子量約 158,000 の糖蛋白質でありグルクロナイド結合を特異的に加水分解する酵素であった。また、工藤ら³⁾は、大豆胚軸から 9 種類のイソフラボン配糖体を単離した。うち 6 成分は既知であり残る 3 成分は、ダイジジン、グリンチン、およびジェニステインのそれぞれグルコースの 6 位がマロニル化した構造であった。これらマロニルイソフラボン配糖体は強い収斂味を呈し、相当するイソフラボン配糖体成分より低い呈味閾値であった。

早出ら⁴⁾は、熱交換器を用いて熱水を循環させる煮熟装置を使用し、得られた煮熟大豆の品質を調べた。原料には 1 晩浸漬した大豆と無浸漬大豆 (直接煮熟) を用いた。1 晩浸漬した大豆は煮熟大豆の硬度を 500~600 g に調整すれば水分は 62~63%, Y (%) 値は 47% 前後になり淡色系味噌に利用できるが、無浸漬大豆は予備加熱 (80°C, 30 分) を行っても吸水は充分でなく、処理大豆の水分は前者より少なくザラツキが感じられ、Y (%) 値は 40% 前後にとどまり淡色系味噌には不向きであった。また、この装置から排出される処理水の COD 濃度は回分式より若干多い程度であったが、大豆に対する水

量が多いことから大豆の処理回数を多くしないと水量と COD 負荷の軽減にはつながらないとした。

(2) 麴

原山ら⁹⁾は、米麴由来のグルタミナーゼおよび *Bacillus subtilis* GT 株の生産するグルタミナーゼの味噌醸造に及ぼす影響を調べた。米麴のグルタミナーゼ活性は醤油麴のその約 30% と考えられるが、麴菌の生育量と高い相関関係にあった。また、米麴のグルタミナーゼは味噌熟成中のグルタミン酸生成にはほとんど関与していないものと考えられた。麴菌グルタミナーゼは味噌中で失活が著しいのに比べ *B. subtilis* GT のグルタミナーゼは比較的安定であった。味噌仕込時に *B. subtilis* GT のグルタミナーゼ製剤を味噌に 0.1~0.5 g/kg 添加することによって、グルタミン酸が無添加のものより 1.5~1.6 倍増加した。官能検査の結果、有意に多くのパネリストがこのグルタミナーゼ製剤を用いた味噌に「旨味」の増加を指摘した。

秋本ら¹⁰⁾は赤色辛口味噌醸造で、製麴時間のみ短縮した麴および麴原料の一部を蒸米で代替した麴の試醸を実施し、製麴時間 30 時間または減麴 20% までは対照味噌（製麴時間 40 時間）の品質に近いものが得られることを報告した。

本藤ら¹¹⁾は、長野県下 84 工場から収集した 87 点の米麴についてプロテアーゼ活性や各種微生物の菌数と麴の状態を調べた。その検討結果の例を示すと、丸米麴（26 点）は破碎米麴（61 点）よりグルコサミン量が有意に多かったが、プロテアーゼ活性は有意に低かった。グルコサミン量は水分、pH と有意な正の相関関係にあったが、プロテアーゼ活性とは相関関係がなかった。生酸菌は食塩 0% 培地で $10^4 \sim 10^6$ 細胞/g のものが多かったが、食塩 10% 培地における耐塩性生酸菌の菌数レベルは低かった。酵母は大部分が $10^4 \sim 10^6$ で食塩 0% と 10% 培地での差が小さく麴に耐塩性酵母が高いレベルで存在することが確認された。

早出ら¹²⁾はこうじみそにおいて、破碎米麴を粒度で分けて酵素活性を調べたところほとんど差がみられなかったと報告した。また、微細粒を除いた麴と除かない麴を使用してうきこうじみそを造り官能検査の結果、後者より前者の方が良い傾向を示し、初発の温度が 35°C で熟成させたものが特に良い評価であった。さらに市販みそのうきこうじの判定を実施し、沸騰試験では長野県内製品は約 30%、県外製品は約 80% が浮いた。こうじが浮いたものだけを中川式試験を行ったところ県内製品は 5 点中 0、県外製品は 12 点中 9 点がうきこうじみそと判定された。

佐藤ら⁹⁾はアルコール殺菌した米こうじがみその品質に及ぼす影響を検討した。アルコールを撒布後密閉し生菌数を低下させた乾燥こうじを用いてみそを試醸した結果、生菌数を低下させた区分の方がみその色はくすんだが、乳酸菌や酵母の増殖が良いように思われた。佐藤ら¹⁰⁾はさらに、米こうじを乾燥して保存する場合の乾燥条件と保存こうじを用いたみその品質について検討した。水分を 10% 以下に乾燥したこうじは変質しない。温風によって乾燥するとき 80°C まではこうじの酵素活性の変化や着色が少ない。凍結保存と乾燥保存のこうじを用いたみその品質に差はみられなかった。

安平らの、「麴の製造法」¹¹⁾と「米麴の製造法」¹²⁾、などの特許が公告された。

(3) 乳酸菌、酵母、仕込み

今井ら¹³⁾は、平成 2 年度より長野県内の工場へ培養、配布を開始した着色抑制乳酸菌 *Pediococcus halophilus* P3 を添加したみそについてその品質特性を検討した。P3 を添加し熟成させたみそ 29 点の成分分析、官能検査の結果、乳酸の生成は対水食塩濃度 22% 以下で良好で、生成有機酸の組成については P3 株は P2 株に比べ乳酸/酢酸比が高く、リンゴ酸の減少率が大きいという特性のあることが確認された。工場での技術担当者の官能概評は色について着色抑制効果がありとする評価が多く全般の評価も良い結果であった。

大澤ら¹⁴⁾は、ベントース発酵能を持つ耐塩性乳酸菌 (*P. halophilus*) を紫外線照射により変異させ 2-デオキシ-D-グルコース(2 DG)処理によりグルコース共存下においてアラビノースを優先的に消費する株を選択し、その生育特性などを調べ、さらに通常の仕込みみそに添加してその挙動について検討した。生育域は食塩濃度 0.5~21%、温度 20~35°C、pH 5.5 以上にあり菌株間に差はなかった。生揚げ培地での培養では着色に差が生じ、P3 が最も淡く P2 が最も濃かった。みそ中に生成された乳酸と酢酸の比率は P21、P2 は他の菌株の半分程度であり、リンゴ酸、酢酸が多くクエン酸が少なかった。みその官能検査では色においていずれの菌株も P2 より評価が良く、P21081、P3 は 5% 危険率で有意に好まれ香り、味、総合でも好まれる傾向があり P21 株は味において 5% 危険率で有意に好まれた。

萱原ら¹⁵⁾は、新規実用耐塩性乳酸菌 *P. halophilus* P3 をグルコースあるいはクエン酸を単一炭素源とする液体培地および MP 培地で好気的および嫌氣的に培養し、有機酸組成を *P. halophilus* P2 と比較した。グルコースを単一炭素源とした場合、P3 株は P2 株に比べ酢酸の生成が少なく、乳酸、ギ酸の生成が多かった。嫌気培養

でグルコース 1 モルから 1.7 モルの乳酸, 0.19 モルの酢酸, 0.37 モルのギ酸を生成した。クエン酸を単一炭素源とした場合, P 3 株は増殖が遅く嫌気培養でクエン酸 1 モルから乳酸 0.2 モル, 酢酸 1.61 モル, ギ酸 0.54 モルを生成した。MP 培地での培養では P 3 株の方が乳酸/酢酸比が高かった。以上から, P 3 株は有機酸生成に関して酢酸生成の少なさ, クエン酸消費の少なさなどで P 2 株より優れていた。

新国ら¹⁶⁾は, みそ熟成中の米由来の蛋白質の変化を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動等で測定, 検討した。

松本ら¹⁷⁾は, 30~33°C で熟成させた辛口味噌を熟成 20~50 日の間にそれぞれ 40~50°C で 0~5 日加温し, 加温による味噌の成分変化と官能上の味噌の品質を検討し, 加温中に pH が下がること, 熟成 20~40 日の味噌は加温中に蛋白溶解率, 蛋白分解率が增大すること, 熟成 30 日の味噌は加温中に直糖生成率が增大することを見出した。さらに色調の変化, 酵母生菌数, アルコール量, 袋詰後の膨化も詳細に検討し, 官能的には 45°C, 1~3 日加温した味噌が最も良く評価されたことを報告した。

早出ら¹⁸⁾は, 低温度中期熟成みそと天然醸造みそ, さらに 20°C 主体で熟成の初期か終期に 10 日間加温して熟成させたみその比較検討を行った。いずれのみそも熟成 6 カ月目の分析成分は Y(%), x を除き大差なかった。積算温度とみそ中の化学反応 (Y(%)), 酵素反応 (蛋白分解率, ピログルタミン酸), 微生物反応 (アルコール) との間には高い相関がみられた。官能検査では有意な差は認められなかったが, 20°C 主体で熟成の初期か終期に加温したものが天然醸造, 短期熟成みそより良いとする傾向がみられた。

伊藤ら¹⁹⁾は, 耐塩性呼吸欠損株 *Zygosaccharomyces rouxii* Y 72 の大量培養条件を, 300 l 容培養装置を用いた培養試験および長野県内の輸送配布を想定した保存試験を行い, 最適初発菌数, 通気量を検討した。また実際のトラック輸送試験も行った。

栢村ら²⁰⁾は, Y 72 株の実用化で問題となる突然死を防ぎ菌数を維持する保護物質 (糖) の検索を行い, その物質の保護作用機構についても調べた。17 種類の糖から保護物質としてマルトースを選択した。菌数の維持はマルトースが利用されることより起こり, マルトースの消費はグルコースが約 95% 消費されたときから始まった。マルトースはグルコース共存状態でなければ利用されず, そのグルコース濃度は 0.1% 以上必要だった。増殖期の細胞ではマルトースは取り込まれなかったのに対し死滅期の細胞で取り込みがみられた。Y 72 株では, マ

ルトース分解酵素 (マルターゼ) によりマルトースが分解されてグルコースが生成された。マルトース類似糖のうち, マルトトリオース, デキストリン, イソマルトースにおいて菌数の維持作用が認められた。

武田ら²¹⁾は, *Z. rouxii* Y 7 の懸濁液を種々の温度で凍結, 融解し, 生菌数の変化を調べ細胞の低温損傷を検討した。通気培養酵母より発酵経過酵母の方が低温による損傷が大きく温度の低下に伴って生菌数が減少した。エタノールと食塩溶液の低温損傷における影響を調べた結果, エタノールにおいて -20~-25°C の間で急激な生菌数の減少がみられたが, 食塩は菌数の減少を促進する因子ではあるがその効果はエタノールほど顕著ではなかった。また相乗効果も認められなかった。また凍結, 融解処理により酵母の発酵力は低下した。

特許としては, 馬場ら²²⁾の「味噌等の仕込方法」がある。

(4) 成分, 分析法, 排水処理, 加工

菅原²³⁾は, ポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法によりみその香気濃縮物を得, GC, GC-MS 分析によりみその甘い香気成分として新たに 4-ヒドロキシ-2(あるいは 5)-エチル-5(あるいは 2)-メチル-3(2H)-フランソ (HEMF) を単離した。HEMF 添加によりみそ様の香気が強くなることも官能検査により見出した。菅原²⁴⁾はさらに, みその製造工程中の香気成分の変化を GC, GC-MS 分析により定量的に取り扱い HEMF が醤油と同様に酵母により生産され, マルトールと 4-ヒドロキシ中のシ-2,5-ジメチル-3(2H)-フランソ (HDMF) は大豆蒸アミノ-カルボニル反応により生成すると推定した。また熟成中, HEMF の他に脂肪族アルコール 4 種, 芳香族化合物 5 種, 高級脂肪酸エチルエステル 5 種, メチオノール, 5-メチル-2-フルフラールが生成し増加した。そして菅原²⁵⁾は, みその種々の香気濃縮法を比較検討しカラム法がもっとももとの香りを濃縮できることを官能検査で証明したこと, そのカラム法により HDMF や醤油の特徴香味成分として知られている HEMF をみそ中で初めて見出したこと, HEMF のみそ香気への寄与が大きいことが官能検査で判明したことを紹介した。

広木ら²⁶⁾は, (社)中央味噌研究所主催の第 33 回全国味噌鑑評会 (平成 2 年 11 月 14, 15 日) 出品の 561 点の味噌の総合結果と理化学分析の結果を紹介し, 解析を試みた。

島崎ら²⁷⁾は, 第 33 回全国味噌鑑評会出品の味噌 535 点につき鉄分を測定し, 原料大豆との関連, 色との関連を検討した。脱皮大豆使用味噌に比べて, 丸大豆使用味噌は明らかに鉄分が高かった。また味噌の鉄分と色の明

度 (Y(%)) は負の相関を示した。

新井ら²⁸⁾は、みその調理科学的特性を明らかにする目的で、米みそ熟成後に含まれるアミラーゼを疎水性クロマトグラフィーおよびイオン交換クロマトグラフィーにより電気泳動的に単一な α -アミラーゼに精製した。その分子量は 53,000 ダルトンで諸性質を検討した結果、米こうじ由来の α -アミラーゼが熟成完了時まで活性を有した状態で残存したものであることが判明した。

古賀ら²⁹⁾は、福岡市内で市販されているみそを含む調味品類中の脂肪酸およびトコフェロール (Toc) 量を分析調査した。これらに用いられている油脂は多様をきわめ、マヨネーズ・ドレッシング類には液体植物油が、風味調味料以外の複合調味料・食品類には牛脂、豚脂および植物油の水添脂が使用されトランス酸が検出されたが、希釈されて用いるものであるためトランス酸の影響は問題にならない。Toc はどの試料にも抗酸化剤として使用されていた。米、麦、豆みそを分析したがこうじ原料の違いによる著しい差はみられず、脂肪量は 100 g 中 2.7~5.4 g でその脂肪酸組成は原料大豆に類似し、不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸の比は 2.8~4.0 と比較的高かった。みその総 Toc 量は平均 12.85 mg/100 g で γ -体が多く原料大豆の Toc 組成に類似していた。

新津ら³⁰⁾は、みそ懸濁液、醤油、並塩水、みそ上澄液で大根を煮、大根への塩化ナトリウムの浸透と大根のかたさに及ぼす影響を調べた。みそ懸濁液は醤油、並塩水、みそ上澄液に比べ、塩化ナトリウムの浸透が遅いが、みその上澄では、醤油、並塩水との差はみられなかった。また大根はみそ懸濁液で煮たときももっともかたく、以下、水、醤油、並塩水の順であった。みそ懸濁液、みそ上澄液で煮たときの大根のかたさには差がなかった。

中村ら³¹⁾は、市販みそ 128 点の有機酸、一般成分ならびに官能検査結果を多変量解析法により解析を行った。相関分析、重回帰分析などを行い、主成分分析から淡色系で官能評価の良いみそは乳酸の多いグループとクエン酸の多いグループに分けることができた。赤色系では官能評価中位のみそは乳酸の多いグループと酢酸の多いグループに分けることができた。

北村ら³²⁾は、第 28 回長野県市販味噌研究会のみそ 250 点について官能検査等を行い、そのうち 128 点について成分分析を行い、その結果を示した。

望月³³⁾は、みそを食品材料として使用した調味加工技術の基本と応用例を紹介した。

篠原³⁴⁾は、みそ汁缶詰を加熱温度 120°C で F_0 値 (微生物の加熱致死値) 30 分を目標として加熱殺菌した場合の加熱方法、みその種類、添加する具の違いが熱伝達および加熱時間に及ぼす影響について検討した。白みそ

汁は、麦、米みそ汁缶詰より内容物の粘度が高く熱伝達が遅いため加熱時間を延長するか、回転数を速くする必要があった。また篠原³⁵⁾はみそ汁缶詰の殺菌工程での熱伝達と加熱時間について解説した。

山辺³⁶⁾は、米みそ、低塩米みそ、麦みそを用いて保存中の成分の変化を測定し、4°C 以下の低温保存ではほとんど変化しないことを明らかにした。しかし高温保存で成分が酵素的および化学的变化を受け品質が著しく低下することを見出し、保存、流通過程における温度管理の重要性を示した。

前田³⁷⁾は、麦みその流通過程でのチロシン析出について解説した。また L-アスコルビン酸添加による生成抑制効果についても解説した。

特許としては、浅利ら³⁸⁾の「味噌加工食品」、草薙ら³⁹⁾の「葉唐辛子味噌の製造方法」、布川ら⁴⁰⁾の「大豆食品」などがある。

(5) そ の 他

渡辺ら⁴¹⁾は、マウスの X 線照射による小腸障害に対するみその効果を検討した。10% 味噌餌を $B_6C_3F_1$ 雄に与え、X 線を照射すると放射線防御作用を示した。しかし放射線照射直後から投与しても防御作用は示さなかった。

早坂⁴²⁾は、みその消費動向を長野県、宮城県、三重県、兵庫県、東京の 5 地域でアンケート調査に基づく統計処理により解析した。居住する地域で製造される伝統みその利用が有意に高いことを示した。また、どの地域でも信州みその利用が比較的高い傾向を示した。その他の嗜好性についても解説した。

佐藤ら⁴³⁾は、発酵型みそと非発酵型みそのみそ汁における嗜好の比率を把握するために、仕込時に酵母、乳酸菌を添加し室温 30°C の熟成室で 2 カ月間熟成させたみそと、これらを添加せず同様に熟成させたみそを用いて、嗜好調査を実施した。一般消費者全体の非発酵型と発酵型の嗜好の比率は 52 : 48 でわずかに非発酵型を好む人の方が多かった。

関連する特許として、大畑ら⁴⁴⁾の「味噌の製造法」、久寿米木ら⁴⁵⁾の「新規な低食塩味噌およびその製造法」などがある。

橋場弘長・布村伸武

〈キッコーマン(株)研究本部〉

III. L-グルタミン酸及び 核酸に関する研究

(1) L-グルタミン酸の発酵生産

鐘ヶ江ら¹⁾はグルコース-酢酸混合基質からのグルタミン酸生合成におけるビオチンの役割について検討し、*Brevibacterium thiogenitalis* から誘導されたオレイン酸要求株 D-248 をビオチン過剰 (150 µg/l 以上) 存在下で、グルコースと酢酸をモル比で 1:2 に混合して培養するとグルタミン酸蓄積量が向上し対炭素当たりの重量換算で実に 70% の収率に達することを認めた。しかしビオチン添加量が少なく酢酸が残存し、ピルビン酸が著量蓄積することを明らかにした。また、菌体より調整した粗酵素液中に、ホスフォエノールピルビン酸カルボキシラーゼ活性と同時にピルビン酸カルボキシラーゼ活性が検出され、ピルビン酸カルボキシラーゼ活性は培地中に添加したビオチン量の増加に反応することを示した。これらの結果より、ビオチンがピルビン酸カルボキシラーゼ活性を介してグルタミン酸生合成に直接関与していることを明らかにしている。

土田ら²⁾はプレバクテリウム属あるいはコリネバクテリウム属細菌からプルマイシンおよびその誘導体の耐性株を育種すると L-グルタミン酸の収率が向上することを見出しこれを L-グルタミンの酸製造法として特許出願している。

KISHIMOTO ら³⁾はファジィエキスパーシシステムを発酵法によるグルタミン酸の生産の最適化に適用した。エキスパートシステムによる予想された最適条件は最高の生産を与える実験から導いている。また、KISHIMOTO ら⁴⁾はグルタミン酸生産においてグルコース濃度を制御するため、培養状態をフェーズに分割して制御する方法について検討した。フェーズの決定はファジィ理論に基づいて行い、各フェーズにはおのおの別の制御策が割り当てられている。培養時間、炭酸ガス発生速度、アンモニアの添加量がモニターされており、それらの値とファジィプロダクションルールを用いて、min-max 演算により、そのときの培養状態がラグ、増殖、遷移期、生産の各フェーズのいずれかに属する度合いが決定される。属するフェーズに割り当てられた制御策に基づき、グルコース供給用チュービングポンプが制御された。以上の方法により培養期間中制御策はスムーズに移行し、グルコース濃度を一定に保つことに成功した。Li ら⁵⁾は *Corynebacterium glutamicus* の固定化菌体を用いたグ

ルタミン酸の生産について検討し、グルタミン酸への変換は 6% に達したことを明らかにした。なお、発酵は連続的に 36 時間続けられた。

山中ら⁶⁾はバチルス・ズブチリスに属する納豆菌が、構成アミノ酸がグルタミン酸であり、全グルタミン酸中の L-グルタミン酸含有率が 90%、平均分子量が 5 千~100 万である新規のガンマー・ポリグルタミン酸を生産することを見出しガンマー・ポリグルタミン酸、その製造法およびこれを含有する飲料用剤の特許を出願した。

VAHYJEN ら⁷⁾は *Streptomyces* sp. X 119-6 から得られた固定化 L-グルタミン酸酸化酵素を使用して L-グルタミン酸の定量を酵素電極を用いて行った。電子供与体として 1,1-ジメチルフェロセンとともに黒鉛電極を使用した。0.2~2 mM の間で電位は L-グルタミン酸に対し直線性を示し、酵素電極がいろいろの食品の L-グルタミン酸の測定に利用できることを示した。

(2) 核酸の発酵生産

富田ら^{8,9)}は *Corynebacterium ammoniagenes* KY 13374 から変異により得られた KY 10895 株を用いて IMP の生産におけるアミノ酸の影響について検討した。他のアミノ酸に比較してプロリンは IMP の生産性を増加させた。IMP 生産のためのプロリンの最適量は 1~2 %で、IMP の生産性は対照の培地に比較して 70% 以上上昇した。変異株 KY 10895 の IMP の生産をプロリンのアナログ、DL-3,4-デヒドロプロリンが阻害した。しかし、KY 10895 株から DL-3,4-デヒドロプロリン耐性株を誘導したところ、得られた H-7335 株はもっとも高い IMP の生産性を示した。これらの発見は細胞内のプロリンの増加は IMP の生産性の増加とつながっており、また、生産株のプロリン合成の強化は IMP の過剰生産を得る方法として効果的であることを示している。同じく富田ら¹⁰⁾はコリネバクテリウム属細菌から、200 mOSMOL/kg 以上の浸透圧に耐性を有しかつ 5'-イノシン生産能を有する菌株を変異誘導することにより IMP の生産性を向上させ得ることを見出し、これを特許出願している。YANG ら¹¹⁾は 6 株の *Brevibacterium ammoniagenes* を鳥や幼児の顔から分離し、その内の 2 株に突然変異をかけて得られた変異株 3 株は著量の 5' IMP を蓄積し、最大で 12.1 mg/ml にのぼることを示した。

CHO ら¹²⁾は XMP から GMP への酵素による効果的な変換について検討した。XMP アミナーゼ源として用いられる *B. ammoniagenes* ATCC 19216 の凍結乾燥菌体をカラギーナン、寒天、ポリアクリルアミドまたはアルギン酸カルシウム中に固定化した。ところで、*B. am-*

moniaenes の固定化しない菌体を用いる GMP の最適生産条件は 100 mg/ml のグルコース、120 mg/ml の凍結乾燥菌体、8 mg/ml の硫酸マグネシウム、5 mg/ml のポリオキシエチレンステアリルアミン (POESA) の存在下 42°C、pH 7.0 であるが、この生産条件では 8 時間以内に 94.5% の XMP が GMP に変換される。一方、固定化菌体を用いた場合、50 mg/ml のグルコース、60 mg/ml の固定化菌体、1 mg/ml のリン酸一カリウム、10 mg/ml のフィチン酸、8 mg/ml の硫酸マグネシウム、5 mg/ml の POESA の存在下で 37°C、pH 7.5 の条件下 40 時間で 64.7% の XMP が GMP に変換されることを明らかにしている。

宮川ら¹³⁾は生合成系に関与する酵素群をコードする遺伝子 (プリン・オペロン) のアデニン系物質、グアニン系物質による発現抑制が解除された株の取得について検討を行った。その結果、組換え DNA 技法を用いてプリン・オペロンのアデニン系物質による発現抑制に関与する DNA 領域およびグアニン系物質による発現抑制に関与する DNA 領域、あるいはそのいずれかがプリン・オペロンの発現を高めるように改変されたもの、およびプロモーター領域が他から適当に選ばれたプロモーターに置き換えられた構造を有する DNA を取得することに成功し、該 DNA を用いて、プリン・スクレオチド生合成系酵素の発現がアデニン系物質およびグアニン系物質、あるいはそのいずれかによって抑制されない新規微生物を作出することに成功した。この手法を用いてバチルス属菌から選ばれた微生物を受容菌として誘導されたこの新規微生物は多量のイノシンおよびグアノシン、あるいはそのいずれかを安定に蓄積することを見出しこれを特許出願している。

核酸関連物質の生産に関してはリンダ¹⁴⁾は *B. helbo-lum* を資化性炭素源およびその他の栄養を含む培地中で適当な培養条件下で好気培養すると培地中に直接 2-デオキシウリジンが蓄積することを見出し 2-デオキシウリジンの製造法として特許出願した。古家¹⁵⁾はシチジン系化合物の合成系の各種酵素群の中でも特に CTP シンセターゼに着目し、この酵素活性を強化することがシチジン生産量の上昇に寄与すると考え、クローニングした CTR シンセターゼ遺伝子をシチジン生産菌に組み込み高度に発現させることによって、CTP シンセターゼの発現量が増加し、さらにシチジンの生産量が飛躍的に増加することを見出しこれを特許として出願した。

古家ら¹⁶⁾はバチルス属細菌から、6-ジアゾ-5-オキソノルロイシン耐性を有し、シチジン生産能を有する菌を培養することによって、シチジンの生産性が顕著に上昇することを認めた。また、培養液中にウラシル系化合物

を入れた場合、ピリミジンサルベージ系路により、シチジン系化合物の蓄積量がさらに増加することを見出した。

横関ら¹⁷⁾は 2',3'-ジデオキシアデノシンを 2',3'-ジデオキシイノシンに変換する能力を有するアクロモバクター、アシネトバクター等に属する微生物の培養液、菌体または菌体処理物を 2',3'-ジデオキシアデノシンに作用させ、2',3'-ジデオキシイノシンを生成・蓄積させ得ることを見出し特許出願した。

渡谷 理夫

〈味の素(株)生産技術研究所〉

引用文献

(特に記さない限り、いずれも年代は 1991 年であるので省略)

I. 醬油

- 1) 加藤 威, 山中, 松本: 特開 254652
- 2) 小川高志, 植松, 伊伝, 竹内: 特開 61462
- 3) 西沢嘉彦: 特公 33300
- 4) 藤原章夫, 藤原, 松浦, 大松, 狩山: 特開 123477
- 5) 宮崎英二, 長田: 特開 168065
- 6) 永田修一, 野口, 川野: 特開 201962
- 7) 田中 滋, 佐藤, 嶋田, 田口: 特公 65743
- 8) 門馬 隆, 深見, 石黒, 小金井: 特開 27240
- 9) 牛島重臣, 中台, 内田: 醬研, 17, 81
- 10) 牛島重臣, 中台, 内田: 醬研, 17, 89
- 11) 牛島重臣, 中台, 内田: 醬研, 17, 243
- 12) 牛島重臣, 中台, 内田: 醬研, 17, 253
- 13) 牛島重臣, 中台, 内田: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 129
- 14) 牛島重臣: *Cell Science*, 7, 17
- 15) 池ヶ谷和男, 石田, 村上, 真崎, 杉尾, 武智, 村上, 辰巳, 小川, 中野, 茂田井, 川辺: 醬研, 17, 204
- 16) 辰巳宏樹, 村上, 小川, 真崎, 石田, 村上, 川辺, 有村, 中野, 茂田井: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 3099
- 17) 西村篤夫, 岡本, 吉迫, 森嶋, 上野: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 461
- 18) Y. FUKUSHIMA, ITOH, FUKASE, MOTAI: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 34, 586
- 19) 福島弥一, 岡田, 伊藤, 深瀬, 茂田井: 醸酵工学, 69, 441
- 20) 村松俊輔, 佐野, 武田, 兎東: 醸協, 86, (8)610
- 21) 牛島重臣, 中台, 内田: 特公 71877
- 22) 牛島重臣, 中台, 内田: 特公 68672
- 23) 牛島重臣, 中台, 内田: 特公 73271
- 24) 牛島重臣, 中台, 内田: 特公 22148
- 25) 石田豊, 村上, 杉尾: 特開 251175
- 26) 横山 勉, 門脇: 特公 37913
- 27) 中台忠信, 湯浅: 特公 14427
- 28) 伊藤晴通, 深瀬, 福島, 岡田, 茂田井: 特開 67587
- 29) ユルゲン クリストナー, ブライナー: 特開 98580
- 30) 平野賢一, 伊藤, 藤吉, 中村, 宿野部: 特開 123484
- 31) 青戸久和, 佐藤: 特開 297376
- 32) 青戸久和, 佐藤: 特開 297381
- 33) 青戸久和, 佐藤: 実新開 2299
- 34) 佐藤貞義, 青戸, 安達: 特開 240478
- 35) 佐藤貞義, 青戸, 栗原: 特開 240479
- 36) 佐藤貞義, 青戸, 安達: 特開 240480

- 37) 佐藤貞義, 青戸, 安達: 実新開 105300
38) 佐々木正治, 勝田, 稻森, 内田: 特開 198769
39) 佐々木正治: 特公 37912
40) 佐々木正治: 特開 151851
41) 藤原善也: 特公 18870
42) 藤原章夫, 藤原: 特開 133374
43) 藤原章夫, 藤原: 実新開 22697
44) 藤原章夫, 藤原: 実新開 43999
45) 藤原章夫, 大松: 実新開 65500
46) 藤原章夫, 藤原: 実新開 50897
47) 藤原章夫, 大松, 田中: 特開 240481
48) 荒木和鬼夫: 特公 33312
49) 大屋敷春夫, 内田, 高山, 大林, 岡: 特開 87170
50) 関根一男, 杉下, 林: 特公 18871
51) 関根一男, 奥原, 杉下: 特公 38831
52) 三木泰昌, 高草, 山本, 斉藤: 特公 39670
53) 川上 博, 石川: 特開 123450
54) 高松 洋, 広瀬, 川野: 実新開 24900
55) 遠藤 勲, 長棟, 樋口, 井上, 牛山: 特公 80467
56) 福島弥一, 岡田, 茂田井, 伊藤, 深瀬: 特開 183473
57) 田辺伸和, 小畑: 特開 19669
58) 瀬島義正, 藤原, 藤原, 大松, 狩山: 特開 123438
59) 小島裕二郎, 長友, 山口, 河野: 特開 147749
60) 小島裕二郎, 長友, 山口, 河野: 特開 147750
61) 茅原 紘, 前田, 大友: 特開 120267
62) 清水保広: 特開 240432
63) 山本 泰, 掛川, 高橋, 東, 好井: 日食工誌, 38, 663
64) K. ABE, UCHIDA: *Arch. Microbiol.*, 155, 517
65) 樋口 猛, 青木, 内田: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 163
66) 西田豊彦, 加藤, 村田: 醸協 86, (5) 372
67) M. SASAKI, NUNOMURA, MATSUDO: *J. Agric. Food Chem.*, 39, 934
68) T. HAMADA, FUKUSHIMA, HASHIBA, MOTAI: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 388
69) 河東田重義, 谷口, 鷺見, 中嶋: *Agric. Biol. Chem.* 55, 2757
70) 牛尾公平, 大塚, 中田: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 210
71) 牛尾公平, 沢谷, 中田: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 390
72) 細野邦昭: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 445
73) 青木光達, 内田: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 87
74) 青木光達, 内田: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2893
75) 青木光達, 内田: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2113
76) 小堀洋美, 高田, 大隅: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 439
77) 安井卓男, 栗村, 藤原, 石川: 醬研, 17, 135
78) 三島 健, 三村, 高原: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 296
79) 阿部敬悦, 橋場, 内田: 特公 80472
80) 高田 茂: 特開 224462
81) ルバック・バジラチヤ・ルヤ, ダック, ウッド: 特開 112461
82) 渡辺 敬: 実新公 9680
83) 鎌田耕造, 村田: 特公 31433
84) 鈴木一男, 岡田: 特開 123466
85) 沼田 忠: 特開 39067
86) 小泉武夫: 特開 61465
87) 大沢久男, 久保, 原田: 特公 24620
88) 古賀昭八郎, 林田: 実新公 129091
89) 栗村芳郎, 安井, 石川: 醬研, 17, 141
90) 藤原善也, 中川, 竹内, 森重, 黄木, 堀川, 斉藤: 特公 23
91) 藤原善也, 中川, 竹内, 森重, 黄木, 堀川, 斉藤: 特公 51389
92) 五明伸平, 岡田, 岡本: 特開 201963
93) 地藏真一, 蔽下: 特開 127963
94) 加藤洋一: 特開 112471
95) 飯塚弘二, 矢島: 特開 19668
96) 木原 清: 醬研, 17, 1
97) 木原 清: 醬研, 17, 58
98) 佐々木正興, 森: 醸協, 86 (12), 913
99) 大下市子, 金森, 水田, 坂本: 食衛誌, 32, 272
100) 飯田雅雄, 森, 橋場, 奥原, 鹿島, 楓, 滝沢: 醬研, 17, 5
101) 鈴木一男, 岡田: 醬研, 17, 52
102) 小林邦男, 橋本: 醬研, 17, 188
103) 飯塚佳子, 小林, 岡田, 橋本: 醬研, 17, 196
104) 大井尚文, 伊藤: ジャパンフードサイエンス, 30, 43
105) 石田信昭, 小林, 狩野, 永井, 小川: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2195
106) 菱本真幸, 金谷, 林: 特開 130058
107) 八尾俊男, 旗生, 林, 船崎, 要藤, 浅野: 特開 151894
108) 高島正一: 包装技術, 29, 1062
109) しょうゆの賞味期間測定委員会: 醬研, 17, 229
110) 山中信介, 松沢, 山下: 奈良県工業試験場研究報告, No.17, 49
111) 柳倉辰六郎, 矢野, 高橋, 山本, 熊谷: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1325
112) 土居幹治, 山内, 松井, 首藤, 木下: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1095
113) 杉山圭吉, 高田, 江川, 山本, 恩塚, 大場: 農化, 65, 35
114) 受田浩之, 松田, 黒田, 箆島, 松藤, 箆島: 農化, 65, 1223
115) 受田浩之, 松本, 甲木, 箆島: 農化, 65, 1229
116) 高島正一: 醸協, 86, (2) 115
117) 斉藤伸生: 醸協, 86, (9) 657
118) 真崎秀彦: 特開 280867
119) 真崎秀彦: 特開 280869
120) 真崎秀彦: 特開 280870
121) 新海豊一, 荻野日, 河合, 原: 特開 292871
122) 木島 卓, 橋本, 山中, 清水, 渡辺, 岡田: 特開 27275
123) 中村 功: 特開 247256
124) 高橋一正: 特開 175939
125) 川上昭八郎: 特開 151852
126) 安東二郎, 福本: 特開 147763
127) 武内良憲: 特開 130050
128) 中村喜孝, 山本: 特開 123465
129) 奥村蒸司, 早川, 林, 小林: 特開 87160
130) 染谷秀幸, 古川, 大崎: 特開 91459
131) 相島鐵郎, 小澤, 森, 橋場: 特開 91456
132) 大塚正人, 若林, 宮島: 特開 67558
133) 大久保一良, 大友: 特開 76552
134) 福山遼彦, 佐合: 特公 17468
135) 浜野光年, 岡安: 特開 47052
136) 北倉芳久, 橋本, 松戸, 佐々木, 浜野, 今村, 伊東: 特開 244361
137) 北倉芳久, 浜野, 橋本, 今村, 伊東: 特開 27268
138) 中園修三: 特公 6781
139) 野崎紘一, 原: 特開 7565
140) 小泉武夫: 特開 61466
141) 小泉武夫: 特開 65150
142) 田中徳子: 特開 65157
143) 島田 潔, 唐沢, 橋本, 井上: 特開 143373
144) 粕谷和男: 特開 53870
145) 武内伸二: 特公 12854
146) 深見賢治, 坂口, 石黒: 特開 87161

- 147) 外山祐子：特開 119979
 148) 伊藤常男，栗橋，岡田：特開 130046
 149) 新海豊一，伊藤，栗橋，岡田，真野：特開 130047
 150) 伊藤常男，栗橋，岡田：特開 130048
 151) 伊藤常男，栗橋，岡田：特開 130049
 152) 奥村蒸司，早川，林：特開 160970
 153) 奥村蒸司，早川，林：特開 160971
 154) 山本秀則，戸松，出雲：特開 39085
 155) 富永 直：特開 151850
 156) 松下 至，桑田，田代：特開 206863
 157) 内藤俊一，早坂，佐藤：特開 254660
 158) 鈴木義克：特開 297363
 159) 森田日出男，松田，長岡：特開 258729
 160) 大谷 明，藪下：特公 37899
 161) 和木 稔，島津：特開 67557
 162) 溝淵利雄：特開 47051
 163) 矢崎喜六：特公 986
 164) 飯田恭介，後藤：特開 10656
 165) 鈴木禎一，重田，小栗：特開 19667
 166) 山際国光，松井：特開 39045
 167) 内田安三，磯，佐伯，長崎，伊藤：特公 17472
 168) 日野亀三郎：特公 25148
 169) 矢野幸男，羽田，渋谷，鈴木：特開 91457
 170) 杉本文一：特公 31411
 171) 赤井弘裕記：特開 139258
 172) 篠崎昌敬：特開 168074
 173) 原田倫夫，遠藤，海老原：特開 195472
 174) 大堀忠志，野俣，川嶋，中村，坂本，高橋，蛇谷，加藤，船岡，今村：特開 175949
 175) 前田美樹，松崎，吉田：特開 187361
 176) 岩田 勉，安達，塚本，川村：特開 216166
 177) 川上敏典：特開 67562
 178) 澄川通人，入江，安田：特開 39049
 179) スチーブン・スーンヤング・クウォン，バブデラ：特開 49651
 180) 木本 実，松尾，山本，橋本，橋田：特公 62382
 181) 本井博文，福留，山縣，田中，中村：特開 143355
 182) ドナルド・ジェイ・ハム：特開 53850
 183) ヨハネス・フランシスカス，ローイジュ，ミーキンズ：特公 19
 184) 西村 猛，坂本，中榮：特開 285652
 185) 大塚正人，若林，川名：特開 297361
 186) 小手川道郎：特開 297362
 187) 庄口真也：特公 78095
 188) 赤井弘裕記：特開 139257
 189) フランク・ジョン・バニック，ルーオウ，ショー：特開 91458
 190) 石黒幸雄，坂本：特開 67561
 191) 石黒幸雄，坂本，豊田，岡沢：特開 139259
 192) 石黒幸雄，坂本，豊田，岡沢：特開 139260
 193) 石黒幸雄，坂本，豊田，岡沢：特開 139262
 194) 菅 徳助，今野：特開 98564
 195) T. HAMADA, M. SUGISHITA, Y. FUKUSHIMA, T. FUKASE, H. MOTAI: *Process Biochem.*, 26, 39
 196) 堀津浩章，王，河合：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 269
 197) 岩崎賢一，中嶋，佐々原，渡辺：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2201
 198) 岩崎賢一，中嶋，佐々原：特開 *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 373
 199) 小澤一広：食品と容器，32, 676
 200) 崔 明洛，佐藤，山岸，山内：特開 *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 214
 201) 崔 明洛，佐藤，山岸，山内：特開 *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 379
 202) 枝広知新，山本：特開 86, (1) 68
 203) 枝広知新，山本：特開 86, (3) 215
 204) 奥田和子，上田：調理科学，24, 43
 205) H. BENJAMIN, STORKSON, NAGAHARA, PARIZA: *Can. Res.*, 51, 2940
 206) A. NAGAHARA, OHSHITA, NASUNO: *Mutation Res.*, 262, 171
 207) A. NAGAHARA, KUMAGAI: *Fd Chem. Toxic.*, 29, 243
 208) 玉岡 徹，伊藤，林：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2071
 209) 寺沢なお子，村田，本間：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1507
 210) 西堀すき江，川岸：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1159
 211) 早瀬文孝，金，加藤：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1435
 212) グェン・ヴァン・チュエン，宇都宮，加藤：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 659
 213) 金子成延，沖谷，早瀬，加藤：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 723
 214) 森田潤司，柏村：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1359
 215) 森 治彦：特開 86 (3), 194
 216) 宗 鋼，伊藤，曹：特開 86, (7) 506
 217) 並木 章：特開 86, (8) 574
 218) 広瀬義成：特開 86, (10) 765
 219) 志村保彦：特開 86, (11) 839
 220) 浜野光年，鈴木：特開 *ジャパニフードサイエンス*, 30, 53
 221) 林 和也：特開 17, 11
 222) 真鍋 勝：特開 17, 123
 223) 真鍋 勝：特開 17, 178
 224) 赤尾 剛，大崎：特公 71880
 225) 佐々木正治，稲森：特開 236758
 226) 草場英治，高橋，角，北村，村瀬，因：特開 292872

II. 味 噌

- 1) 平 春枝：特開 86, (7) 487
 2) 工藤重光，對崎，打田，大久保：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 31
 3) 工藤重光，FLEURY, WELTI, MAGNOLATO, 喜多村，打田，大久保：特開 *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2227
 4) 早出昭雄，今井，安平：特開 信味研報告，32号，1
 5) 原山文徳，安平：特開 86, (7) 529
 6) 秋本隆司，松本，今井：特開 味噌の科学と技術，39, 355
 7) 本藤 智，伊藤，原山，中村，桜井，安平：特開 信味研報告，32号，5
 8) 早出昭雄，伊藤，安平：特開 信味研報告，32号，15
 9) 佐藤 正，安平：特開 信味研報告，32号，85
 10) 佐藤 正，安平：特開 信味研報告，32号，89
 11) 安平仁美，六川，南沢，岸：特公 65147
 12) 安平仁美，坂口，西沢，加藤：特公 38832
 13) 今井 学，中村，武田，伊藤，早出，安平：特開 信味研報告，32号，41
 14) 大澤好明，安平：特開 信味研報告，32号，45
 15) 萱原久孝，安平：特開 信味研報告，32号，52
 16) 新国佐幸，石山，鈴木：特開 日食工誌，38, 316
 17) 松本伊佐尾，秋本，今井：特開 味噌の科学と技術，39, 254
 18) 早出昭雄，武田，安平：特開 信味研報告，32号，18
 19) 伊藤公雄，中村，今井，安平：特開 信味研報告，32号，23
 20) 栢村秀範，萱原，安平：特開 信味研報告，32号，29
 21) 武田 茂，早出，今井，安平：特開 信味研報告，32号，36
 22) 馬場良男，藤原，藤原，大松，狩山：特開 240459
 23) 菅原悦子：特開 日食工誌，38, 491

- 24) 菅原悦子：日食工誌，38，1093
- 25) 菅原悦子：醸協，86 (6)，411
- 26) 広木恵美子，藤波，島崎，綾部，海老根：味噌の科学と技術，39，382
- 27) 島崎寿賀子，曹，海老根：味噌の科学と技術，39，449
- 28) 新井映子，石川，伊東：家政学会誌，42，767
- 29) 古賀民穂，山内：日本栄養・食糧学会誌，44，309
- 30) 新津真紀，安平：信味研報告，32号，56
- 31) 中村昌昭，本藤，早出，今井，安平：信味研報告，32号61
- 32) 北村靖則，新津，桜井，大澤，萱原，原山，本藤，佐藤，安平：信味研報告，32号，68
- 33) 望月 努：醸協，86，(1) 30
- 34) 篠原伸雄：味噌の科学と技術，39，100
- 35) 篠原伸雄：醸協，86，(8) 570
- 36) 山辺重雄：醸協，86，(2) 108
- 37) 前田正道：醸協，86，(4) 255
- 38) 浅利 昭，荒谷：特公 76910
- 39) 草薙民子：特公 75141
- 40) 布川ケイ：特開 15356
- 41) 渡辺敦光，高橋，石本，伊藤：味噌の科学と技術，39，29
- 42) 早坂千枝子：醸協，86，(9) 651
- 43) 佐藤 正，安平：信味研報告，32号，93
- 44) 大畑育雄：特公 7343
- 45) 久寿米木一裕：特開 24478

III. L-グルタミン酸及び核酸

- 1) 鐘ヶ江幸洋，中対，杉山，神崎：農化，56，737
- 2) 土田隆康，関，内堀，川島：特開 49690
- 3) M. KISHIMOTO, M. MOO-YOUNG, P. ALLSOP: *Bioprocess, Eng.*, 6, (4) 163
- 4) M. KISHIMOTO, Y. KITTA, S. TAKEUCHI, M. NAKAJIMA, T. YOSHIDA: *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 110
- 5) Y. LI, Y. HUANG, L. YE, P. SUI, Q. WEN: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 613 (Enzyme Eng. 10) 883
- 6) 山中 茂，菊池：特開 47083
- 7) W. VAHJEN, J. BRADLEY, U. BILITEWSKI, R. D. SCHMID: *Anal. Letters*, 24, 1445
- 8) K. TOMITA, T. NAKANISHI, Y. KURATU: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2221
- 9) 富田和弘，中西：特開 312594
- 10) 富田和弘，木野，中西：特開 312595
- 11) Z. YANG, Y. ZENG, S. LIU, R. HOU: *Sichuan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, 28, (1) 114
- 12) J. CHO, J. IL., W. SUNG: *Han'guk Susan Hakhoechi*, 24, (2) 111
- 13) 宮川権一郎，神崎：特開 164185
- 14) リンダ・アン・ネイラー：特開 47085
- 15) 古家加夫留：特開 228689
- 16) 古家加夫留，大石：特開 262496
- 17) 横関健三，白江，小林：特開 291291