

園芸学部・生物生産科学科 政田正弘

大和薬品(株)・研究開発部 朱 霞

## はじめに

納豆は昔より利用されている醗酵食品の一つであるが、特有の粘性物質の存在と臭いにより食べることのできない人々がいる一方で、その特有の粘性や臭いを好ましいものとして感じている人々も多い。納豆にはビタミンK<sub>2</sub>をはじめとした有用な成分が多く含まれていることは良く知られているが、最近になって納豆に含まれているナットウキナーゼが血栓溶解活性を示すことが報告された。そこで、ナットウ菌の生産するナットウキナーゼについての共同研究を行なうこととして、初年度においてはナットウキナーゼ生産と納豆菌の増殖など、ナットウキナーゼ生産に関する基本的事実を明らかにすることを目標とした。

### 1. ナットウキナーゼ活性の測定

ナットウキナーゼにはプラスミン様活性とフィブリン溶解活性を示すことが知られている。今回の測定においては再現性の高いプラスミン様活性を測定することでナットウキナーゼ活性の測定に変えた。フィブリン溶解活性を測定することは高い活性を得る場合に大事なことであるが、それについては後述する。プラスミン様活性の測定には市販の臨床検査薬を用い、1分間に405nmの吸光度を0.01増加させる活性を1ユニットと便宜的に定義してある。

### 2. 市販納豆に含まれるナットウキナーゼ活性の測定

市販納豆に含まれているナットウキナーゼ活性について調べた。市販納豆1パックには重量で40~80gの納豆が含まれている。重量に対し同容量の緩衝液を加えて抽出し、含まれている活性を測定した。測定に際しては酵素液量を変化させ、酵素濃度依存性のあることを確認して活性とした。納豆製品間の比較を行う場合には、納豆1g当たりの活性量を計算しておこなった。結果として、最も製品の種類が多かった納豆1パックの重量を45gの場合で、約20~25ユニットであった。

また、市販納豆の種類についても検討した結果、味、臭い、粘性など食感に関することは別として、ナットウキナーゼ活性量についてのみ考えると高級とされている納豆には一般的に活性が低く、いわゆる特売品とされている納豆に活性が高い傾向が示された。

### 3. ナットウキナーゼ活性の高い菌種の分離

納豆菌の分離は市販納豆を用いておこなった。納豆菌は主に高橋菌、宮城野菌と呼ばれているが、日本国内で市販されている納豆には、各納豆製造会社が納豆菌を専門に販売している会社からそれぞれ購入して使用しており、この種菌には納豆菌以外に乳酸菌など多種類の菌種が混合されている。今回のナットウキナーゼ生産に使用する納豆菌としては、粘性物質が少なく、かつナットウキナーゼ活性の高い菌を必要とすることから、まず市販納豆から目的とする菌の分離を試みた。平板寒天培地上でコロニーを単離し、各コロニーごとに液体培養をおこなった。培養液から菌体を除去したものを凍結乾燥後、乾燥物一定量を水に溶かして活性測定をおこなった。測定の際の注意点は上記で記した通りである。

この方法によりナットウキナーゼ活性の高い生産菌を分離することができた。しかしながら、多くの分離されたナットウキナーゼ活性の高い菌では、培養を続けることによりコロニー相の異なるものに変化したり、あるいはナットウキナーゼ活性が消失するなど変異の激しいことが確認された。種菌として販売されている菌に乳酸菌などが混和されている理由はこのようなことにあるのかと推察される。

### 4. 納豆菌の液体培養によるナットウキナーゼの生産

単離された10数種類の菌について液体培養をおこない、培養上清を凍結乾燥後、ナットウキナーゼ活性、粘性、臭いについて検討をおこなった。

ナットウキナーゼを含む納豆菌培養成分として最も問題となる点は、粘性物質と臭いである。この二つの要素が納豆の一般的普及に問題を投げかけており、一方では個々人の嗜好にも答えている要素である。今回の目的としては、納豆特有の粘性も臭いもない培養成分を得ることであるため、極力粘性も臭いもない培養液、最終的には凍結乾燥品を作ることとした。粘性が存在することの問題点は、吸湿性の原因となることと舌触りが悪くなり触感に問題が生じることにある。また臭いの原因は産生されるアンモニアによるものであり、通常の培養では除くことができないため、凍結乾燥時に処理をすることにより、よりアンモニア臭の少ない標品を得るようにした。さらにナットウキナーゼ活性は菌の培養により、菌体数が最高となった以降に産生されるらしく、また大豆成分が存在しない培養液中ではナットウキナーゼは産生されなかった。培地組成を含む培養条件の改善と凍結乾燥をおこなう時の諸条件について検討をおこなった結果、納豆菌培養抽出物の凍結乾燥品約1gに市販納豆1パックに相当するナットウキナーゼ活性を含む標品をえた。

### 5. 今後の問題点

使用する納豆菌には変異が起りやすいと考えられることから、より安定化した納豆菌を選抜する必要がある。また臭いについては完全に無臭というわけにはいかなかったため、この点についても改善の余地がある。さらにナットウキナーゼ誘導に関しての問題点も残されている。