

注目しています... その技術!

高吸水性ポリマーを用いた酵素法比色測定ビーズの開発と応用 ～グルタミン酸・グルコース・乳酸の安価な簡易測定手段～

先崎 千稚, 日下部 均

株式会社 エンザイム・センサ

1. はじめに

食品分析におけるアミノ酸や糖類などの測定は、高価な分析機や専門技術が必要な手法による分析で行われている。当社ではより簡便な測定法として、アミノ酸・糖・有機酸の酵素法比色測定キット13種を開発し[1]、全キットに共通で使えるLED比色計を付属したセット製品も販売している。これら全てのキットが、調製済みの溶液タイプで、室温・2ステップで測定が可能であり、基質に対して濃度依存的に紫に発色する。この溶液キットを使用して、小中高の生徒を対象とした、食品のグルタミン酸（うま味）とグルコース（甘味）を測定する実験教室を開催したところ、発色液の濃淡で大まかな濃度を測定できる当社のキットは、食品分析の入門として有用であることが分かった。しかし、学校での溶液キットの使用はコスト高になる。そこで、圧倒的に安価に、かつ必要最低限の準備と操作で測定ができる、ドライケミストリー法の分析手段として「高吸水性ポリマーを用いた比色測定ビーズ」を3種類開発した。グルタミン酸、グルコース、乳酸を簡易測定できるこれらのビーズは、ターゲット物質を選択的かつ高感度に目視で検出できることから、「センサービーズ」と名付けた。

2. センサービーズの製法と測定原理

ドライケミストリーによる酵素比色測定手段の担体として、高吸水性ポリマー（Super Absorbent Polymer; SAP）ビーズに着目した。SAPビーズを、当社溶液キットの組成を基本とした試薬溶液に浸すことで、オキシダーゼ、ペルオキシダーゼおよび発色試薬などをビーズ内部に封入し、それを乾燥してセンサービーズとした。グルタミン酸センサービーズ（GUB）を例にすると、ビーズ内に封入されたL-グルタミン酸オキシダーゼ[2]が、試料液中のL-グルタミン酸を酸化し、それと同じモル

当量で生成する過酸化水素がペルオキシダーゼの作用により新トリンダー試薬およびカプラー化合物と反応して、グルタミン酸濃度に比例した濃度の色素を生成する（図1）。オキシダーゼの種類を変えることによって、グルコースセンサービーズ（GCB）、および乳酸センサービーズ（LAB）も開発した。GUBおよびLABは青、GCBは紫に発色するように、新トリンダー試薬を選択した。

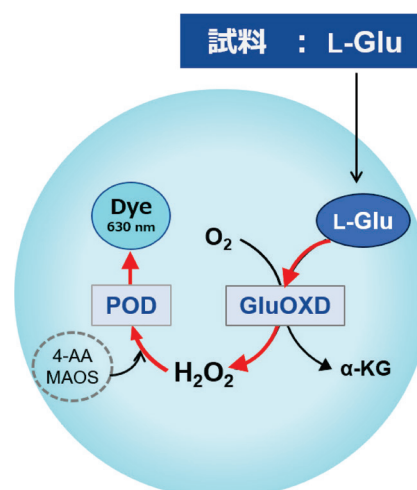


図1 グルタミン酸センサービーズの測定原理

3. センサービーズの使用方法

センサービーズを試料液に浸すと膨潤しながら発色する。ビーズと試料液は、小瓶などの透明な容器中、または白色反応板のウェル上で反応させた。30-40分後に試料液を除去し、発色したビーズを色見本と目視比較して定量数値を求めた（図2）。

4. センサービーズの性能

発色したセンサービーズをスマートフォンで撮影した画像の彩度を、ビーズの性能評価の指標とした。GUB（青ビーズ）に対してグルタミン酸、GCB（紫ビーズ）にはグルコースの各標準液を吸水・反応させたと

〒305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6

† E-mail: senzaki@enzyme-sensor.com

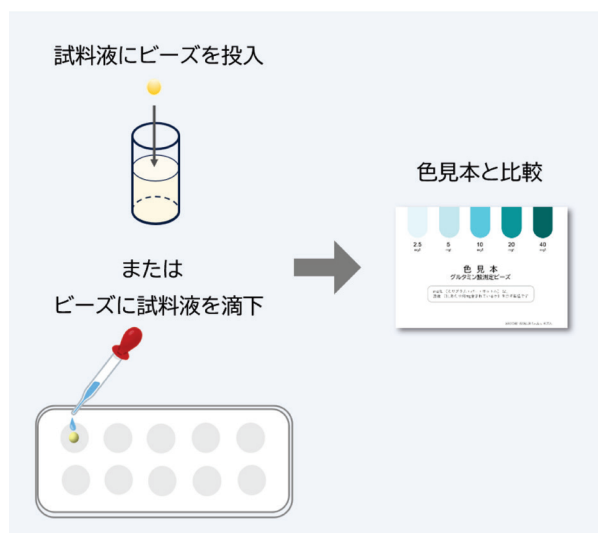


図2 センサービーズの使用方法

ころ、20 mg/L までは濃度依存的に発色した (図3)。目視では、0-40 mg/L の濃度範囲において判別可能であった (図4)。なお、LAB (青ビーズ) の発色は GUB と同程度であった。GUB, GCB および LAB の各ビーズは、使用したオキシダーゼと同等の高い特異性を有していた。また、いずれのビーズも室温で6か月以上安定であった。

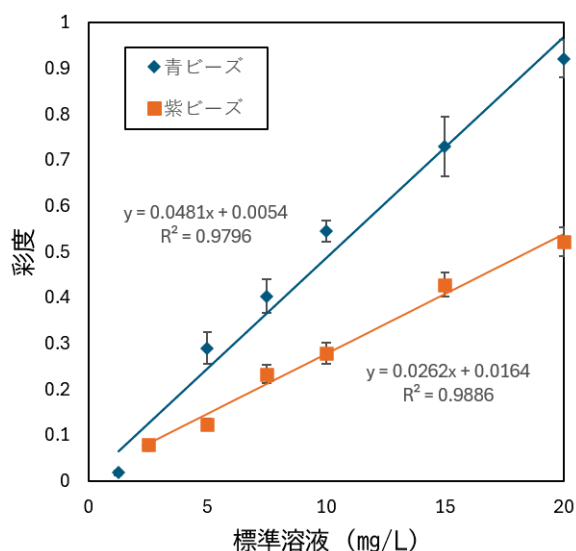


図3 センサービーズの発色



図4 センサービーズの発色 (目視)

5. 実サンプルの測定

市販の食品について、センサービーズの色見本による測定値と、当社の溶液キットと LED 比色計で測定した値を比較した。グルタミン酸の測定には、醤油、コンソメスープ、昆布出汁、および日本酒を用いた。グルコースと乳酸の測定には、乳製品、醤油および日本酒を用いた。測定に供する試料液は、食品分析データベース [i] 記載の成分濃度を参考に、センサービーズの測定可能範囲となるように水道水で希釈して調製した。各試料液によって発色したセンサービーズの測定値 (試験者8名の平均値) が、溶液キットによる測定値と強い相関を示したことから (図5)、3種センサービーズの簡易的な測定手段としての実用性が確認された。なお、当社の溶液タイプの製品キットは HPLC 法などの既存測定方法による測定値と強い相関 (相関係数 0.99) を有している。

6. 複数成分の測定

6.1 トマトのグルコースとグルタミン酸の同時測定

トマトにはグルコースと果糖がほぼ等量含まれているが、ショ糖の含有量はごく少ない。すなわち、グルコースの量を測定することで、トマトの甘味成分の大体の量が推定できる。また、トマトにはグルタミン酸 (うま味成分) が他の野菜に比較して多く含まれている。そこで、市販のトマト4種のゲル状部分から果汁を採取し、水で希釈して小瓶に入れた。そこへ GUB と GCB を投入することによって、グルタミン酸及びグルコースの同時測定が可能であったことから (図6)、トマトの簡便な科学的品質評価の手段として利用できる可能性がある。

6.2 日本酒の甘口辛口簡易評価

私たちは、日本酒のグルコース濃度から乳酸濃度を差し引いた新しい指数と官能検査による甘辛度の間に、強い相関があることを見出した [3]。そこで、5種類の市販の日本酒を水で希釈した試料液に GCB と LAB を浸し、ビーズの発色の濃淡から、日本酒の甘口辛口の判別を試みた [4] (図7)。紫 (グルコース) が濃くて青 (乳酸) が薄いお酒は甘口、その反対が辛口の判定とすると、画像からは、日本酒 A と B がやや甘口、C が辛口、D は甘口、E がやや辛口と推定された。

7. おわりに

これまで、高校までの教育分野における食品分析の実験は、コストと技術の両方の面で困難であった。センサービーズは1測定当たりのコストを安くすることができる。また、水とコップだけあれば、誰でも目視で濃度が

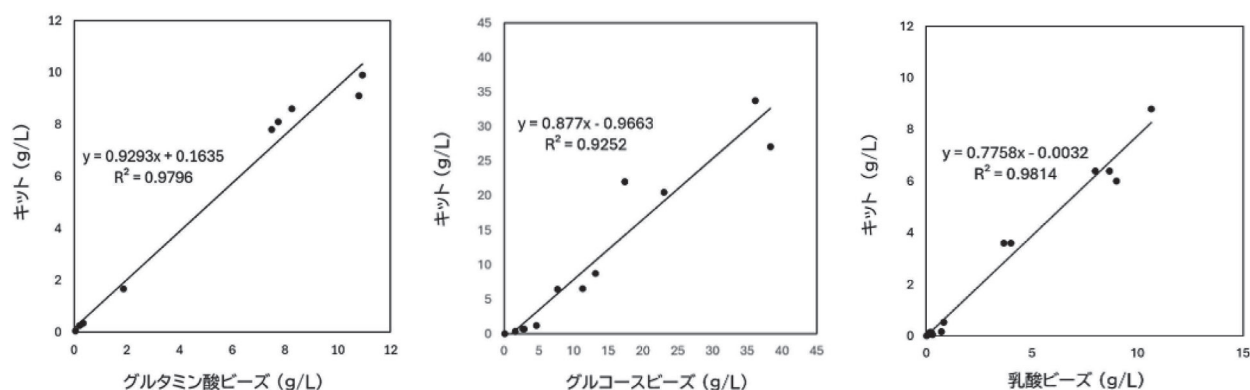


図5 3種センサービーズと溶液キットの相関

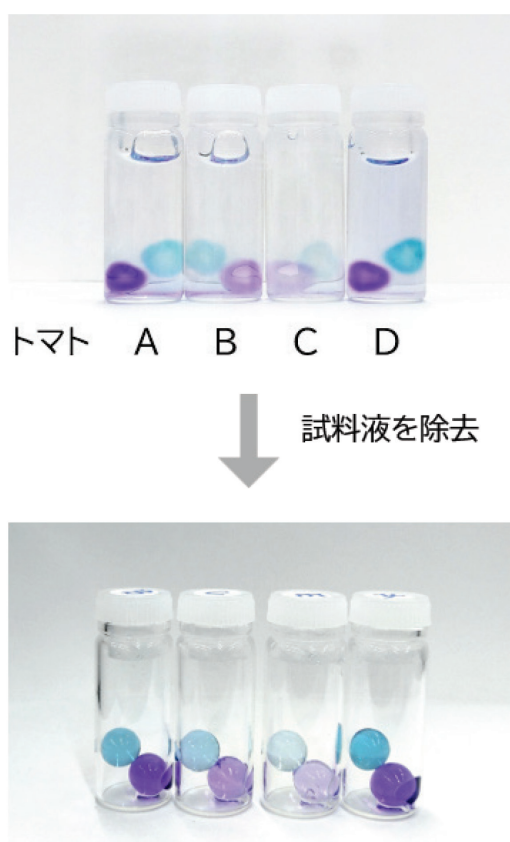


図6 トマトのグルコースとグルタミン酸の同時測定

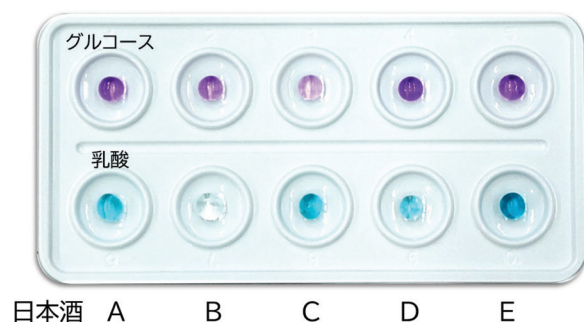


図7 日本酒の甘口辛口簡易評価

分かることから、特に教育分野におけるマイクロスケール実験に好適である。学校の理科や家庭科の授業において、あるいは生徒の自由研究において、代表的な食品成分であるグルタミン酸、グルコースおよび乳酸の定量的な実験データを自分で得ることの意義は大きい。また、バイオの根幹である「酵素の活性」を目で確認できるという効果もある。当社では、センサービーズを使った測定キットを、まずは自由研究用として製品化する。さらに、感度の良さ（1 ppm まで検出可能）を利用した新しい使い方を探索するとともに、発色したセンサービーズをスマートフォンで撮影することで、画像に濃度が自動的に表示される簡易数値化アプリの開発も進めていく。

8. 謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人広沢技術振興財団の支援を受けて実施しました。ここに深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 日下部均；アミノ酸測定に適した酵素の発見と測定キットの開発。化学と生物，**59**. 520-526 (2021)。
- 2) H. Kusakabe, Y. Midorikawa, T. Fujishima, A. Kuninaka, H. Yoshino; Purification and Properties of a New Enzyme, L-Glutamate Oxidase, from *Streptomyces* sp. X-11.9-6 Grown on Wheat Bran, *Agric. Bol. Chem.*, **47**. 1323-1328 (1983)。
- 3) 先崎千稚，橋野彩子，日下部均；日本酒の甘口辛口や味わいを判別する可能性。SAT テクノロジー・ショーケース，第22回要旨集，P-93 (2023)。
- 4) 先崎千稚，橋野彩子，日下部均；日本酒のグルタミン・グルコース・乳酸の簡易測定。日本食品科学工学会，第70回記念大会要旨集，2E6p02 (2023)。

引用 URL

- i) <https://fooddb.mext.go.jp/> (Jun.09.2026)