

オートクレーブ処理による培地中のアミノ酸組成の解析

(日大工¹) ○内藤 瞭太¹・沼田 靖¹・岸 努¹・小林 厚志¹

Analysis of amino acid composition in culture media by autoclaving

(¹Nihon University)○Ryota Naito,¹ Yasushi Numata,¹ Tsutomu Kishi,¹ Atsushi Kobayashi,¹

Simultaneous autoclaving of D-glucose and yeast extracts, which are essential for culture media for microorganisms, results in the formation of toxic compound through amino-carbonyl reaction. Therefore, standard protocols recommend that D-glucose and other components should be sterilized individually. However, at the laboratory level, D-glucose and other components are often autoclaved at the same time. In addition, it has been reported that the growth rate and amount of growth of *Saccharomyces cerevisiae* were better in the simultaneously autoclaved medium than in the separately sterilized medium.¹⁾ This indicates that components that have a positive effect on the growth of *S. cerevisiae* were produced during autoclaving. In this study, we report on the changes in the substances before and after autoclave treatment by an amino acid analyzer and a spectrophotometer.

First, when component analysis of amino acids before and after autoclaving was performed to track the change in the amount of amino acids in the medium, little change in the peak ratio in the chromatogram was observed. Next, the visible light absorption spectra of the medium before and after autoclaving were measured. When the culture media in the presence of D-glucose was autoclaved, the absorbance around 400-500 nm increased by about 30% compared to autoclaving the culture media in the absence of D-glucose. These results suggest that resulting substances may be produced by caramelization reaction of D-glucose alone. **Keywords :** *aminocarbonyl reaction, caramelization reaction, amino acid*

微生物の育成に必要な D-グルコースと酵母抽出物等とを同時にオートクレーブ処理を行うと、アミノカルボニル反応を経る毒性物質の生成が起こる。そのため、標準的なプロトコルでは D-グルコースとその他の成分の滅菌処理は個別に行うことが推奨されている。しかしながら、実験室レベルでは同時にオートクレーブされることが多く、また、別途滅菌処理した培地よりも同時にオートクレーブ処理した培地のほうが、*Saccharomyces cerevisiae* の増殖速度と増殖量が優れているとの報告もある。¹⁾ このことは、同時オートクレーブ処理時に *S. cerevisiae* の増殖に好影響を与える成分が生成したことを示している。本研究では、アミノ酸分析計と分光光度計による、オートクレーブ処理の前後での物質の変化について調べたので報告する。

まず、培地中のアミノ酸の量の変化を追跡するために、オートクレーブ前後のアミノ酸の成分分析を行ったが、ピーク比の変化はほとんど観測されなかった。次に、オートクレーブ処理前後の培地の可視光吸収スペクトルの測定を行った。未処理の培地成分は 400-500 nm の範囲で左肩上がりの吸収スペクトルを示したが、オートクレーブ処理することにより、その領域の吸光度がおおよそ 1.5 倍程度上昇した。D-グルコース共存下でオートクレーブ処理した場合はさらに 30% 程度上昇した。以上のことから、生成した物質は D-グルコース単独で起こるカラメル化反応であることが示唆された。キーワード：アミノカルボニル反応，カラメル化反応，アミノ酸

1) A. Matsuura, personal communication.