

## 研究報文

## 魚醤油へのアスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌の利用

脇中琢良<sup>1</sup>, 岩田聡実<sup>1</sup>, 竹石裕也<sup>1</sup>, 渡部潤<sup>1</sup>, 茂木喜信<sup>1</sup>, 月岡祐一郎<sup>1</sup>, 柴田由起<sup>2</sup>  
(ヤマサ醤油株式会社・製造本部<sup>1</sup>, ブレッシングフェバー株式会社<sup>2</sup>)

(令和元年10月30日受理)

**Isolation of halophilic lactic acid bacteria possessing aspartate decarboxylase and application to fish sauce fermentation starter**

Takura Wakinaka<sup>1</sup>, Satomi Iwata<sup>1</sup>, Yuya Takeishi<sup>1</sup>, Jun Watanabe<sup>1</sup>, Yoshinobu Mogi<sup>1</sup>,  
Yuichiro Tsukioka<sup>1</sup>, Yuki Shibata<sup>2</sup>

(*Manufacturing Division, Yamasa Corporation<sup>1</sup>, and BlessingFavour Co.,Ltd.<sup>2</sup>*)

アスパラギン酸脱炭酸性の好塩性乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* を分離し、魚醤油の発酵スターターとして使用したところ、魚醤油中のアスパラギン酸がアラニンに変換され、アミン類の蓄積も抑制された。

## 緒言

魚醤油は魚を塩に漬けて発酵させる伝統的な調味料で、熟成過程で魚のタンパク質が魚自身の消化酵素によって加水分解され、ペプチドやアミノ酸になり、強い旨味を呈する。

魚醤油の諸味からは、醤油諸味と同様に好塩性乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* が細菌叢を構成する主要な微生物として分離されている<sup>1)</sup>。 *T. halophilus* の一部の菌株は、ヒスタミンやチラミンなどの生理活性アミンを生産することが知られており<sup>2, 3)</sup>、これらアミン類の蓄積を抑制するためにアミン非生産性の菌株を発酵スターターとして添加することが、魚醤油製造においても行われるようになってきている<sup>4)</sup>。

*T. halophilus* は、アミン生産性以外にもアミノ酸や有機酸、糖類の代謝に多様性があり、これらの違いが製品の風味に影響を与えと考えられる。特に酸性アミノ酸であるアスパラギン酸を脱炭酸して、甘みを有するアラニンに変換する菌株は、醤油の味を改変できる可能性が示されている<sup>5)</sup>。

しかし、アスパラギン酸脱炭酸酵素を有する *T. halophilus* は、魚醤油などの水産物発酵食品から分離されたことはこれまでなく、魚醤油のスターターとして使用されたこともなかった。そこで本研究では、このような菌株を分離し、魚醤油の発酵スターターとして用いて、アミノ酸組成の変化、アミン類の蓄積を抑制する効果、更に味の変化について検証した。

## 実験方法

## サンプル

乳酸菌を分離したサンプルを表1に示す。魚醤油は日本国内の魚醤油製造業者より入手し、魚の糠漬けは国内の市場で購入した。

## アスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌の分離

アスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌は、pH指示薬であるプロモクレゾールパープルを含む寒天培地上で分離した。乳酸菌の乳酸生成によるpH低下でプロモクレゾールパープルは黄色になるが、アスパラギン酸が脱

表1 アスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌を分離したサンプルの一覧

サンプル番号	種類	魚種	分離株数
1 <sup>a</sup>	魚醤油諸味	ニギス	14
2 <sup>a</sup>	魚醤油諸味	ニギス	12
3 <sup>a</sup>	魚醤油諸味	ニギス	15
4 - 12 <sup>a</sup>	魚醤油諸味	ニギス	0
13 - 17	糠漬	サバ	0
18	糠漬	イワシ	1
19 - 20	糠漬	イワシ	0
21	糠漬	イワシ	13
22	糠漬	イワシ	19

<sup>a</sup> 同一業者の別ロット

炭酸されると中和作用によりpHが低下せず紫色のままとなるため、コロニー周囲の色でアスパラギン酸脱炭酸株を判別できる<sup>6)</sup>。サンプルは10%食塩水で適宜希釈して播種し、30℃で6日間嫌気培養した。

#### アミノ酸脱炭酸酵素遺伝子の検出と種の同定

アスパラギン酸 (*aspD*)、ヒスチジン (*hdcA*) およびチロシン (*tdcA*) の各アミノ酸脱炭酸酵素遺伝子は、それぞれプライマー *aspF-aspR*, *hdcF-hdcR* および *tdcF-tdcR* を用いてPCRにより検出した(表2)。また、16S rRNA 遺伝子上に *T. halophilus* 特異的なプライマー Th67F および Th800R を設計し種の簡易同定に用いた。PCRにはSapphireAmp (タカラバイオ) を使

表2 プライマー配列

プライマー名	配列 (5'→3')
<i>aspF</i>	AATGTTTTCCCTACTGAAGG
<i>aspR</i>	CCTGTTGCACCATAAAGTTT
<i>hdcF</i>	ACTTGGGGTTGACCGTATCTCAGTGAGTC
<i>hdcR</i>	TCTTCGTTAGGAGTCTCCAAACACCAGC
<i>tdcF</i>	CGTGGTGGCATGGATCTTTTC
<i>tdcR</i>	GCACCCTCTTCAGTTGAACCAG
Th67F	ACGCTGCTTAAGAAGAACTTCGG
Th800R	TGGACTACCAGGGTATCTAATCC
<i>aspInvF</i>	CATTGGCTAACCAACCAGCTG
<i>aspInvR</i>	GACATACCTTTTAATGTTC AATATCTAATGATTCC
<i>repInvF</i>	GCAAAAAGAAGACGAACGCAAC
<i>repInvR</i>	TTTTTGATTATGGCAATTAATAAACTCCC
<i>pinInvF</i>	GATTGAACGAAAAACAGGCATTAGTG
<i>pinInvR</i>	TTGATCTTGTGTACTTACCCTAGCATAACC

表3 使用した菌株

株名	性質	分離源または引用元
<i>Tetragenococcus halophilus</i> C1	アスパラギン酸、ヒスチジン、チロシン非脱炭酸性	魚醤油諸味より分離
<i>Tetragenococcus halophilus</i> A-24	アスパラギン酸脱炭酸性	醤油諸味より分離
<i>Tetragenococcus halophilus</i> H	ヒスチジン脱炭酸性	文献 2
<i>Tetragenococcus halophilus</i> TyrA	チロシン脱炭酸性	文献 3

用した。PCR産物は、0.9%アガロースゲル(ニッポンジーン)で電気泳動し、臭化エチジウムで染色して検出した。アスパラギン酸、ヒスチジン、チロシンの脱炭酸株を、陽性対照として使用した(表3)。

16S rRNA遺伝子増幅産物をWizard SV Gel and PCR Clean-Up System (プロメガ)を用いて精製し、その配列をDNAシーケンスサービス(ファスマック)によって決定して、BLAST解析により種を同定した。

### 分離株の分類

分離した菌株をプラスミド配列に基づき分類するために、プライマーセットaspInvF-aspInvR, repInvF-repInvRおよびpinInvF-pinInvRを、それぞれaspD, repA(複製開始タンパク質をコードする)およびpinR(部位特異的リコンビナーゼをコードする)遺伝子上に設計した。これら3組のプライマーセットを混合し、KOD FxNeo(東洋紡)を使用してPCRを実施した。PCR産物は0.7%アガロースゲルで電気泳動し、DNAフラグメントパターンに基づいて分離株を分類した。

### スターター培養液の準備

スターター菌株は、好塩性乳酸菌用の醤油培地<sup>7)</sup>と同様の組成になるよう、魚醤油(プレッシングフェバー)を用いて調製した魚醤油培地を用いて、30℃で5日間培養した。

### 魚醤油仕込み

カタクチイワシのすり身に、食塩およびグルコースを最終濃度がそれぞれ17%、0.5%となるよう混合し魚醤油諸味とした。小規模仕込みでは、魚醤油培地で調製した2 mlのスターター培養液を200 gの魚醤油諸味に加えた。大規模仕込みでは、30 mlのスターター培養液を20 kgの魚醤油諸味に加えた。いずれも30℃で28日間発酵させた。

対照株としては、*T. halophilus* C1株を用いた。C1株は、アスパラギン酸、ヒスチジン、チロシンを脱炭酸しないことを事前に確認した(表3)。

### 成分分析

魚醤油諸味は濾紙(No.2; 東洋濾紙)で濾過し、濾液を各種分析に供した。アミノ酸組成は、ニンヒドリン検出器を備えた高速液体クロマトグラフィーHitachi ELITE LaChrom(日立ハイテクノロジーズ)で分析した。アミン含有量は、ポストカラムo-フタルアルデヒド誘導体化および蛍光検出を利用した高速液体クロマトグラフィーSCL-10AVP(島津製作所)によって測定した。窒素含有量は、SUMIGRAPH NC-220F(住化分析センター)を使用して測定した。食塩濃度は、自動滴定装置COM-1700(平沼産業)を用いて電位差滴定により測定された塩素含有量から決定した。還元糖濃度は、フェリシアン化物<sup>8)</sup>を用いて測定した。乳酸および酢酸含有量測定にはShodex OA(ショウデックス)を使用した。

### 菌数

好塩性乳酸菌の検出には、LA13培地を使用した。組成は1%ポリペプトン、0.4%酵母エキス、1%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、12%食塩、0.5%グルコース、5%醤油(ヤマサ醤油)および1.5%寒天で、過去に報告された好塩性乳酸菌用培地<sup>9)</sup>をわずかに改変した。サンプルは10%食塩水で希釈し、LA13培地上に塗布して30℃で5日間嫌気培養した。

### 官能評価

魚醤油諸味を28日間熟成後に濾紙濾過し、濾液を90℃に達するまで加熱した。その後、得られた魚醤油を電気透析システムMicro Acilyzer S3(アストム)で、カートリッジAC-110(サンアクティス)を用いて透析し、全窒素1.5%、食塩1.5%に調整した。対照であるC1株と本研究で分離した1-1株または21-11株をスターターとした魚醤油について、9名のパネリスト(男性24~38歳)で、塩味、うま味、甘味、苦味、酸味を5段階評価で採点した。

### 統計分析

データは、SPSSソフトウェア(SPSS)を用いて分析した。2群の比較は対応のないt検定を、2群以上の比較は一元配置分散分析とダネット法またはボンフェ

表4 PCRに基づく分離株の分類

分類	菌株
A	<u>1-1</u> , 1-7, 1-9, 1-10, 1-14, 2-1, 2-5, 3-15
B	<u>1-2</u> , 1-3, 1-5, 1-6, 2-2, 2-6, 2-7, 2-8, 2-10, 3-4, 3-6, 3-8, 3-9, 3-14
C	<u>1-4</u> , 1-12
D	<u>1-8</u> , 3-2, 3-5
E	<u>1-11</u> , 2-3, 2-4, 2-11, 2-12, 3-3, 3-7, 3-10, 3-11, 3-12, 3-13
F	<u>1-13</u>
G	<u>2-9</u>
H	<u>3-1</u>
I	<u>18-1</u> , 21-2, 21-6, 21-8, 22-14, 22-18
J	<u>21-1</u> , 22-2
K	<u>21-3</u> , 21-5, 21-7, 21-9, 21-10, 21-12, 22-4, 22-5, 22-6, 22-8, 22-9, 22-10, 22-11, 22-12, 22-13, 22-15, 22-16, 22-17, 22-19
L	<u>21-4</u> , 22-1, 22-7
M	<u>21-11</u> , 22-3
N	<u>21-13</u>

下線を付した株を仕込み試験に供した。

ローニ法による多重比較検定を用いて評価した。全ての実験は3連で実施した。ただし官能評価は同じ菌株を使用した3サンプルを混合して得られた魚醤油を用いて実施した。

結果と考察

アスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌の分離と同定

74株のアスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌候補株を分離した(表1)。全ての分離株が*aspD*を有するが*hdcA*および*tdcA*を有さず、種特異的プライマーセットを用いたPCR増幅により*T. halophilus*と推定された(データ非掲載)。各株は、分離されたサンプル番号と通し番号をハイフンで連結して命名した(表4)。

分離株の分類

同一サンプルからの分離株は遺伝的に同一である可能性があるため、株の分類を試みた。プラスミド構造に基づき簡便に分類するため、*aspD*、*repA*および*pinR*の3遺伝子上にプライマーを設計しPCRを行った。*aspD*はアスパラギン酸脱炭酸酵素の構造遺伝子であり、全分離株が保有していることを確認してある。*repA*および*pinR*は、これまでの報告から*hdcA*および

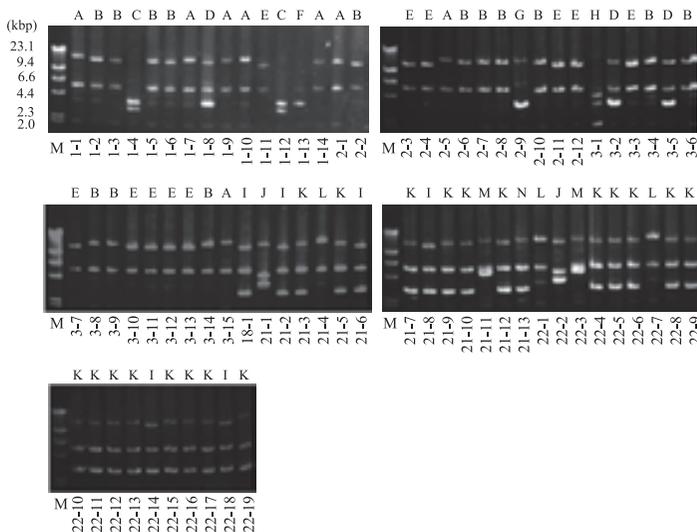


図1 分離株の分類のためのPCRによるDNAフラグメントパターン。株名は各レーンの下に示した。Mは分子量マーカー-Lambda HindIIIを表す。各レーンの上のアルファベットは表4にも記載した分類結果を表す。

*tdcA*をコードする *T. halophilus*の多くのプラスミド上に存在し, *aspD*をコードするプラスミド上にも存在する蓋然性が高い<sup>2, 10</sup>). 従って, これら3遺伝子上に設計したプライマーを用いたPCRでは, 3本のDNAフラグメントを形成することが期待された。結果, 全ての分離株が明瞭に3本のフラグメントを形成したわけではなかったが, フラグメントパターンによって14のグループに分類することができた(図1, 表4)。

### 小規模仕込み試験

分類した14のグループからそれぞれ1株ずつ選択し仕込み試験に用いた(表4)。それら14株の16S rDNA

配列は全て *T. halophilus*のものと99.8%以上の同一性を示すことを確認した(DBDJ登録番号LC430618~LC430631)。まずは小規模の仕込み試験として, 14の分離株および対照としてC1株(表2)を魚醤油培地で培養し, 魚醤油諸味に添加して28日間発酵後, 諸味に蓄積されたアミノ酸, アミン含有量を分析した。アスパラギン酸脱炭酸酵素を有する14株すべてが, 対照のC1株と比べアスパラギン酸を28.0~31.6 mM減少させ, アラニンを増加させた(表5)。1-11株は, アスパラギン酸に加えてアルギニンも減少しており, アルギニンデイミナーゼ経路によってアルギニンが分解されたと推測される。

表5 魚醤油の小規模仕込み試験におけるアミノ酸とアミン含有量

	C1	1-1	1-2	1-4	1-8	1-11	1-13	2-9	3-1	18-1	21-1	21-3	21-4	21-11	21-13	NS
アミノ酸 (mM)																
アスパラギン酸	31.6	0.1*	0.2*	0.1*	0.0*	2.1*	3.6*	1.0*	1.2*	1.9*	1.7*	1.8*	0.1*	0.3*	1.4*	31.7
スレオニン	19.7	19.3	19.9	20.4	20.1	20.7	20.9	20.1	19.9	19.2	20.3	20.4	18.9	19.3	19.6	21.1
セリン	19.8	19.6	19.8	20.4	20.4	20.1	20.2	20.3	19.7	18.9	19.6	19.9	19.1	19.6	19.4	17.5
グルタミン酸	34.3	33.6	34.6	35.4	35.1	34.9	35.3	34.9	34.2	32.9	34.6	34.8	33.5	35.0	34.1	35.1
グリシン	14.8	14.7	15.5	15.2	15.3	15.4	15.4	15.2	14.9	14.3	14.9	14.8	14.6	15.2	14.6	16.0
アラニン	35.8	69.0*	70.2*	71.5*	73.0*	68.2*	67.0*	68.9*	67.5*	64.0*	68.5*	68.8*	67.0*	69.8*	66.7*	39.1
システイン	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.5	0.5	0.3	0.3	0.6	0.5	0.4	0.5	0.4	0.6	0.6
バリン	22.0	21.5	22.0	22.5	22.2	22.5	22.7	22.1	21.9	21.0	22.4	22.4	21.2	22.4	21.8	23.3
メチオニン	11.4	11.6	11.8	12.1	11.9	12.1	12.1	12.0	11.7	10.9	11.7	12.0	11.2	11.6	11.3	12.1
イソロイシン	16.3	15.9	16.3	16.6	16.5	16.6	16.7	16.5	16.2	15.5	16.4	16.4	15.7	16.6	16.2	16.9
ロイシン	31.6	30.8	31.3	32.4	31.9	32.1	32.3	32.0	31.5	30.3	31.8	32.0	30.2	31.9	31.5	32.6
チロシン	1.3	1.1	1.2	1.2	1.2	1.1	1.3	1.1	1.0	1.0	1.3	1.2	1.1	1.1	1.0	0.4
フェニルアラニン	10.6	10.2	10.2	10.8	10.3	10.8	10.6	10.4	10.4	9.9	10.3	10.7	9.8	10.8	10.5	9.5
リシン	29.4	30.4	31.2	31.6	31.6	31.7	31.6	31.4	30.9	29.8	31.5	31.3	30.0	31.6	31.0	27.4
ヒスチジン	14.3	14.4	15.1	14.5	15.1	15.1	14.7	15.2	15.1	13.9	13.7	13.4	14.7	15.0	13.8	2.6*
アルギニン	15.9	16.2	16.8	15.4	17.1	0.2*	16.1	16.8	16.6	15.7	14.9	14.4	16.2	16.8	15.5	0.0*
アミン (ppm)																
チラミン	21	5	4	42	4	4	26	8	4	12	41	46	4	6	21	1172*
プトレシン	125	22	22	110	17	78	345	21	12	31	153	185	18	23	64	2888*
カダベリン	215	16*	15*	50*	18*	15*	49*	15*	14*	21*	51*	61*	16*	18*	35*	770*
ヒスタミン	73	16	14	105	12	10	71	20	11	43	159	190	28	30	78	1510*
アグマチン	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
フェネチルアミン	5	5	2	9	6	1	9	1	2	1	14	15	1	1	5	209*
トリブタミン	154	20*	4*	275*	8*	7*	239*	37*	9*	68*	261*	270*	20*	46*	172	419*
スベルミジン	13	13	12	13	14	10	15	10	111	13	25	28*	13	10	15	57*

三連実験の平均値を示しており, C1株を接種したサンプルとダネット法による検定で有意に差のある ( $p < 0.05$ ) サンプルにアスタリスクを付した。NSはスターター非添加区を表す。

スターターを添加しなかった諸味では、アルギニンおよびヒスチジンが有意に減少し、様々なアミンが著量蓄積された(表5)。これと比較すると、スターターを添加した諸味ではいずれの生理活性アミンの蓄積もほぼ抑制された。スターター非添加区で蓄積したアミンは、野生の微生物の混入によって産生されたと考えられる。チラミン、ヒスタミン、フェネチルアミン、トリプタミンおよびスベルミジンは、1-4株、21-1株、21-3株などの特定の株で増加する傾向があった。これらの株は、何らかの理由で野生微生物の生育抑制効果が他の株よりもわずかに弱かった可能性がある。蓄積したアミン類のうち、ヒスタミンとチラミン以外は高食塩濃度下で蓄積する機構についてあまり報告がない。本研究では、これらのアミン類の生成に関与する微生物については特定しなかったが、食品衛生の観点からは今後の研究が望まれる。

カダベリン含有量はC1株を添加した諸味において増加した。*T. halophilus*の特定の株を使用することで魚醤油のカダベリン含有量が増加したとの報告があり、カダベリンはリシンの脱炭酸によって生じることから、このような株はリシン脱炭酸酵素活性を有している可能性がある<sup>10)</sup>。

### 大規模仕込み試験

アスパラギン酸をアラニンへ変換することによる官能的な効果を検証するため、上述の仕込み試験でアスパラギン酸をほぼ完全にアラニンへ変換した1-1株および21-11株と、対照としてC1株を用いてより大容量で魚醤油仕込み試験を実施した。諸味に添加する直前の培地中での各株の菌数は、それぞれ $1.3 \times 10^7$ 、 $1.4 \times 10^8$ および $1.0 \times 10^8$  CFU/mlであった。1-1株および21-11株を添加したサンプルの菌数は、発酵期間を通してC1株を添加したサンプルよりも多く(図2A)。この菌数の差は、アスパラギン酸脱炭酸によって引き起こされる酸耐性によるものと考えられる。アスパラギン酸脱炭酸は、細胞からプロトン除去し細胞内のpH低下を抑制するとともに、アスパラギン酸よりアルカリ性のアラニンを生成し、同時に生成する炭酸はガスとして空气中に放出されるため諸味のpHもわずかに上昇する。これによって、1-1株および21-11株

を添加したサンプルで、有機酸含有量が多いにもかかわらずpHがより高い理由も説明できる(表6, 図2B)。

1-1株および21-11株を添加したサンプルでは、C1株を添加した対照サンプルと比較して、アスパラギン酸は95%以上減少し、アラニンは107%以上増加した。データは示していないが、添加後14日目には、1-1株および21-11株を添加した魚醤油諸味中のアスパラギン酸含有量は検出限界以下であった。したがって、これらの魚醤油に残ったアスパラギン酸は、乳酸菌の増殖が完了した後に原料から溶出したと考えられる。小規模試験でも同様であったが、アスパラギン酸の減少量よりもアラニンの増加量がやや多く、これはアスパラギン酸の濃度が低下することでアスパラギン酸を溶出させる分解酵素の活性が上昇したためかもしれない。アスパラギン酸とアラニン以外のアミノ酸組成に有意な差はなかった。

1-1株および21-11株を添加した魚醤油で全てのアミンは100 ppm未満に抑制された。ヒスタミンとトリ

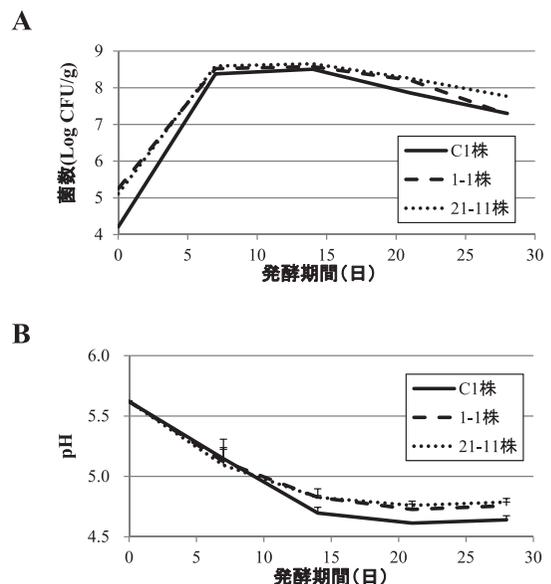


図2 菌数(A)とpH(B)の推移。各データとエラーバーは、三連実験の平均値+標準偏差を示している。スターター添加前の諸味からは好塩性乳酸菌が検出されなかったため( $<5 \times 10^1$  CFU/g)、添加直後の菌数は培養液中での菌数を元に算出した。

プタミンの含有量はサンプル間でわずかに異なるが、小規模仕込みでの傾向とは一致しないので、スターターとは無関係のサンプル間の微生物叢のわずかな違いによって引き起こされた可能性がある。C1株添加サンプルではプトレシンおよびカダベリンの含有量が増加したが、これは小規模試験でも同様であった(表5)。リシン脱炭酸酵素はオルニチン脱炭酸活性も有す

ることが他種において報告されているため、プトレシンおよびカダベリンは同じ酵素によって産生されたのかもしれない<sup>12)</sup>。

官能評価

魚醤油は透析し、全窒素1.5%、食塩1.5%に調整した。透析前の魚醤油は非常に塩味が強くサンプル間の味の違いを認識するのが難しかったため、塩味を低減した上で官能特性を評価するために透析した。

官能評価の結果、1-1株および21-11株を添加した魚醤油は、C1株を添加したサンプルよりも甘味が強かった一方、塩味、苦味、酸味が弱まる傾向にあった(図3)。C1株を添加した対照サンプルでは還元糖含有量がより高く、乳酸、酢酸含有量は少ないため、この味の違いは糖や有機酸の違いによって引き起こされたのではなく、アスパラギン酸のアラニンへの変換によると推測される。アスパラギン酸は「酸味、わずかに苦味」を呈し閾値が0.182~0.226 mM、アラニンは「甘

表6 魚醤油の大規模仕込み試験における各成分の分析結果

	C1株	1-1株	21-11株
全窒素 (%)	1.44 ± 0.01	1.39 ± 0.04	1.42 ± 0.01
食塩 (%)	16.5 ± 0.5	16.9 ± 0.4	16.7 ± 0.4
pH	4.64 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.76 ± 0.03 <sup>b</sup>	4.79 ± 0.03 <sup>b</sup>
還元糖 (%)	0.70 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>b</sup>
乳酸 (%)	1.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.30 ± 0.03 <sup>b</sup>
酢酸 (%)	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.00	0.11 ± 0.00
アミノ酸 (mM)			
アスパラギン酸	30.7 ± 0.8 <sup>a</sup>	1.4 ± 1.0 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.4 <sup>b</sup>
スレオニン	18.3 ± 0.5	19.8 ± 2.2	20.0 ± 0.6
セリン	19.4 ± 0.5	20.9 ± 2.1	21.2 ± 0.7
グルタミン酸	31.1 ± 1.2	33.5 ± 3.5	33.9 ± 1.4
グリシン	14.0 ± 0.3	15.3 ± 1.4	15.3 ± 0.7
アラニン	35.5 ± 0.4 <sup>a</sup>	73.5 ± 6.8 <sup>b</sup>	74.1 ± 3.6 <sup>b</sup>
システイン	0.9 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.0
バリン	21.1 ± 0.7	22.4 ± 2.2	22.6 ± 1.0
メチオニン	11.9 ± 0.2	12.8 ± 1.4	12.9 ± 0.5
イソロイシン	15.2 ± 0.4	16.1 ± 1.6	16.2 ± 0.7
ロイシン	29.7 ± 0.7	31.8 ± 3.2	31.9 ± 1.3
チロシン	0.9 ± 0.1	1.4 ± 0.4	1.1 ± 0.1
フェニルアラニン	10.2 ± 0.3	10.7 ± 1.3	10.8 ± 0.4
リシン	27.7 ± 0.7	31.8 ± 3.1	31.8 ± 1.2
ヒスチジン	12.6 ± 0.3	14.1 ± 1.6	13.8 ± 0.5
アルギニン	16.4 ± 0.4	17.5 ± 1.6	18.0 ± 1.2
総アミノ酸 (mg/ml)	38.7 ± 0.9	40.8 ± 4.2	41.1 ± 1.7
アミン (ppm)			
チラミン	90 ± 4	91 ± 3	96 ± 4
プトレシン	26 ± 1 <sup>a</sup>	10 ± 0 <sup>b</sup>	11 ± 1 <sup>b</sup>
カダベリン	383 ± 43 <sup>a</sup>	48 ± 1 <sup>b</sup>	52 ± 4 <sup>b</sup>
ヒスタミン	3 ± 0 <sup>a</sup>	7 ± 0 <sup>b</sup>	7 ± 0 <sup>b</sup>
アグマチン	21 ± 2	17 ± 1	18 ± 2
フェネチルアミン	0 ± 0	7 ± 4	0 ± 0
トリプタミン	14 ± 2 <sup>a</sup>	11 ± 0 <sup>b</sup>	12 ± 1 <sup>ab</sup>
スベルミジン	18 ± 1	16 ± 1	17 ± 1

三連実験の平均値±標準偏差を示しており、同じアルファベットを共有していないサンプル間では、ボンフェローニ法による検定で有意に差がある(p<0.05)。

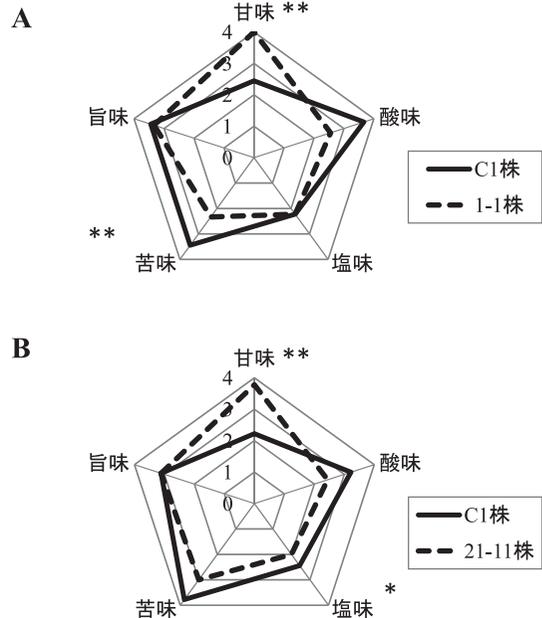


図3 魚醤油の官能評価結果。実線がC1株、破線が1-1株(A)と21-11株(B)を示す。各データは9名のパネリストの回答の平均値を示し、アスタリスクを付した項目はt検定で有意に差があった(\*p<0.05, \*\*p<0.01)。

味」を呈し閾値が6.7~16.2 mMであるため、この推測は妥当であると思われる<sup>13, 14)</sup>

魚醤油は調味料であり、酸味や苦味も含めた独特で複雑な味が持ち味であって、必ずしも甘味が強い製品が高品質であるということにはならない。従って、我々はアスパラギン酸脱炭酸性乳酸菌が魚醤油の発酵スターターとしてより優れているとは考えていない。しかしながら、発酵スターターの使い分けによって味を変えるという手法は、製品の多様性を充実させるための一つの手段になりうるだろう。

本報は2018年6月8日に開催された日本醤油技術センター第86回醤油研究発表会（東京大会）において発表した内容に一部加筆したものである。なお本研究は本誌に先立ち*International Journal of Food Microbiology*誌に掲載されている。著作権はELSEVIER社が保持しており、文献15から本文と図表の一部を改変・転載している。本論文を引用する際は文献15を引用する必要がある。

### 要 約

1. アスパラギン酸脱炭酸酵素を有する *Tetragenococcus halophilus* を水産物発酵食品から分離した。
2. 分離株を魚醤油の発酵スターターとして使用した。
3. 分離株はアスパラギン酸をアラニンに変換し、魚

醤油諸味中での生理活性アミンの蓄積を抑制した。

4. アスパラギン酸脱炭酸により魚醤油の味がわずかに改変された。

### 参 考 文 献

- 1) J. Thongsanit et al. : *Jpn. J. Lactic Acid Bact.* **13**, 46 (2002)
- 2) M. Satomi et al. : *Int. J. Food Microbiol.* **126**, 202 (2008)
- 3) M. Satomi et al. : *Fish. Sci.* **804**, 849 (2014)
- 4) 木村メイコら : 日本水産学会誌, **81**, 97 (2015)
- 5) K. Uchida : *Jpn. J. Lactic Acid Bact.* **11**, 60 (2000)
- 6) T. Higuchi et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 1601 (1998)
- 7) 野田義治ら : 本誌, **8**, 108 (1982)
- 8) AC. Hulme et al. : *Biochem. J.* **25**, 1051 (1931)
- 9) 山里一英と飯塚広 : 日本農芸化学会誌, **33**, 379 (1959)
- 10) M. Satomi et al. : *Int. J. Food Microbiol.* **148**, 60 (2011)
- 11) N. Udomsil et al. : *J. Agric. Food Chem.* **59**, 8401 (2011)
- 12) Y. Takatsuka et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 1063 (1999)
- 13) J. Kirimura et al. : *J. Agric. Food Chem.* **17**, 689 (1969)
- 14) SS. Schiffman et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **27**, 51 (1981)
- 15) T. Wakinaka et al. : *Int. J. Food Microbiol.* **292**, 137 (2019)