

新規乳酸菌スターターによる醤油中ヒスタミンの低減化



研究ノート

福良 奈津子*

Reduction of Histamine in Soy Sauce using Novel Lactic Acid Bacterium Starter

Key Words : Histamine, Lactic Acid Bacterium, Soy Sauce

はじめに

宮崎県は、農業産出額（2021年）が3,478億円で全国4位と国内有数の食料供給地。この豊かな農林畜水産物を利用し、食を通じた産業競争力の強化と雇用の創出による地域の活性化を図るため、本県では、2013年度に「みやざきフードビジネス振興構想」を策定し、産学金労官一体となって、総合的なフードビジネスの成長産業化を目指した取組を進めてきた。

食品に関する県立の試験研究機関である宮崎県食品開発センターは、振興構想のもと県内の食品企業への技術支援を使命とし、食品に関する試験研究や食品加工等の技術指導、加工施設と分析機器の貸与、依頼試験、共同研究等を行っている。

そのうち、応用微生物部は、酒類、醤油、味噌等の発酵食品に関する分野を担当し、これまで様々な発酵食品において新商品や品質改善等に役立つ微生物の研究開発に取り組んできた。近年では、県内の発酵食品や農産物から微生物を分離・同定した「宮崎県微生物データベース」を構築し、酵母や乳酸菌をはじめとする約3,500株の微生物資源について、発酵食品等への活用を図っている。

本稿では、当部で取り組んだ醤油中ヒスタミンを低減する新規乳酸菌の開発について紹介する。

宮崎県の醤油

全国では、品質安定化のため、醤油乳酸菌や醤油酵母などの微生物スターターを利用して醸造組合や大手製造企業で醤油もろみを製造し、以降の調合や火入れの工程をそれぞれの工場で行う製造方法が主流となりつつある。一方、本県では、他県に比べ、自社で醤油もろみを製造する一貫製造の工場が多く、そのほとんどで酵母や乳酸菌を添加せず、蔵付きの微生物による醤油製造が行われている。しかし、蔵付き微生物の中には、アレルギー様食中毒の原因となるヒスタミンを産生する乳酸菌も存在する。ヒスタミンについては、国内の基準はないものの、一度産生されると加熱工程で分解されず醤油中に残存するため、食品衛生の観点から、醤油業界では醤油中のヒスタミン低減が課題となっていた。

実際、県内醤油の実態調査を行ったところ、2016年当時、県内醤油製造場10社の自家製醤油もろみ中8社でヒスタミンが検出された。食品の国際規格であるCODEXの魚醤油の基準を超えないレベルではあったものの、多くの製造場で一定程度のヒスタミンが検出されたことから、ヒスタミンを産生する野生乳酸菌が県内の製造場にも存在することが判明し、本県においてもヒスタミン対策が必要であることが明らかとなった。

ヒスタミンの低減に向けて

ヒスタミンは、製造環境に存在する一部の野生乳酸菌が原因で産生されるため、対策としては、工場内の洗浄を徹底し、野生乳酸菌を取り除くことが重要である。また、ヒスタミン非産生の乳酸菌スターターを添加することで、野生乳酸菌の増殖を抑制することも効果的である^{1)~4)}。

そこで、県内の醤油もろみから乳酸菌を分離し、ヒスタミンを産生せず、かつ、醤油の品質向上に寄



* Natsuko FUKURA

1987年8月生まれ
大阪大学大学院 工学研究科 生命先端
工学専攻博士前期課程 (2012年)
現在、宮崎県食品開発センター 応用微生物部 主任技師
修士
専門/醸造
TEL : 0985-74-2060
FAX : 0985-74-4488
E-mail : fukura-natsuko@pref.miyazaki.lg.jp

与する特徴をもつ本県オリジナルの新規醤油乳酸菌株の選抜に取り組んだ。

醤油乳酸菌の分離と選抜

先に述べたように、本県には自社でもろみを製造する工場が多く、醤油もろみタンクもFRP、木桶、コンクリートと様々である。そのため、県内醤油もろみには、多様な乳酸菌の存在が期待された。

まず、県内10社の自家製醤油もろみから耐塩性乳酸菌218株を分離。遺伝子解析等を行い、206株の醤油乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* (*T. halophilus*) を得た。

スターターとして選抜する乳酸菌は、第一に、ヒスタミンを産生しないことが重要である。分離した乳酸菌が、ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) 遺伝子を有するか確認し、HDC 遺伝子が検出された4株を除く202株を選抜した。

また、醤油製造においては、凝集性の高い株が醤油の透明性向上に有効である。そこで、202株の凝集性試験を行い、凝集性の高い乳酸菌9株を見いだした。このうち漬物・薬品様の好ましくない臭いを生じた3株を除く6株を有望なスターター候補として選抜した。

さらに、乳酸菌6株をそれぞれ添加した醤油の小仕込み試験を行い、醤油JASきき味検査員による味・香りの評価を行ったところ、選抜株の中で *T. halophilus* MS0204株が最も高い評価を得た。併せて、県内醤油製造場の製造ラインからサンプリングしたもろみを用いた小仕込み試験も行い、乳酸菌を添加した全ての試験区でヒスタミンが検出されないことを確認した。

以上の試験を行い、ヒスタミンを産生せず、凝集性が高く、小仕込みした生揚醤油の官能評価が高い醤油乳酸菌 *T. halophilus* MS0204株を選抜した。

乳酸菌の特性評価

分離・選抜した乳酸菌6株について、醤油製造での実用性を確認するため、アミノ酸等の代謝特性、ジアセチル生産性、糖類資化性を確認した。その結果、選抜乳酸菌6株は、菌株によりアミノ酸等の代謝が異なった。特に、MS0204株はアルギニンを分解しないため発がん性物質の前駆体であるカルバモイルリン酸を生成せず、かつ、アスパラギン酸を分解

し醤油の味をまろやかにするアラニンを生成するという特徴を有していた。また、MS0204株はヨーグルト様の香りを持つジアセチル生産性が他の菌株に比べて高く、本乳酸菌株を利用することにより、特徴ある香味を有する醤油製造につながるものと期待された。さらに、菌株による糖類資化性の違いを確認し、選抜株が既存の乳酸菌株とは異なる本県オリジナルの乳酸菌であることを確認した。

さらに、製造現場に存在する野生株に対するヒスタミン産生抑制能について確認するため、あえてヒスタミン産生株を、濃度を変えて添加した上で、MS0204株を添加した小仕込み試験を実施し、もろみ中のヒスタミン濃度を測定した。その結果、MS0204株は、野生株に対して1,000倍量を添加することでヒスタミンの産生を抑制できる、つまり、醤油製造における乳酸菌スターターとして活用できることを確認した⁵⁾。

実用化検討

選抜したMS0204株の実用化に向け、拡大培養の検討と県内醤油製造場での実証試験を行った。

スターターとして添加する乳酸菌は多量に必要であるため拡大培養を行う必要があるが、日本農林規格により拡大培養の培地の原材料には制限がある。そこで、既報を参考に県内で製造された淡口生揚醤油を用いた培地を検討し、培地組成を確立した。また、培養温度についても検討し、新規乳酸菌MS0204株は、フラスコまたはジャーフェーマンターを用いて30~35℃で培養することで拡大培養が可能となり、冷蔵で2週間の保存も可能であることを確認した。これにより、実用化に向けた乳酸菌の培養方法が確立した。

また、実態調査でヒスタミンが検出された県内の醤油製造場において実規模の試験醸造を行った。5tタンク仕込み時に乳酸菌培養液10Lを添加したところ、無添加のタンクと比較してヒスタミンの産生を1/10以下に抑制できた。さらに生揚醤油の官能評価は、無添加のものと同様以上であり、「味にうまみ、まるみがある」、「香味バランスに優れる」などの良好なコメントが得られた⁵⁾。

実証試験において、ヒスタミンの産生を抑え、かつ、官能評価も良好であることから、新規乳酸菌MS0204株が醤油用スターターとして極めて有効で

あることが確認された。

なお、新規乳酸菌及びそれを用いた醤油の製造方法については、2022年9月に特許登録（特許第7148921号）されている。



図 県内醤油製造場での実証試験の様子

県内醤油製造場への乳酸菌の販売

開発した乳酸菌は、2022年3月に宮崎県味噌醤油工業協同組合から「新規醤油乳酸菌スターター液」として乳酸菌の販売が開始され、新規乳酸菌を使用した醤油製造が可能となった。

より効果的に新規乳酸菌を利用するためには、ヒスタミンを産生する野生乳酸菌をなるべく減らした上で、スターター液を添加する必要がある。そこで、事業者に対し改めて製造場や仕込みタンクの適切な洗浄方法等も併せて支援を行っていく。また、県内醤油のヒスタミン濃度について、定期的にモニタリングを行いながら、引き続き、新規醤油乳酸菌を使用した醤油の製造方法について、技術情報の提供を行っていく。

おわりに

開発した新規乳酸菌 MS0204 株は、醤油の仕込み時にスターターとして添加することで、①ヒスタミンの産生を抑えることができる、②醤油の濁りを抑えることができる、③醤油の味をまろやかにすることができるなどの利点があり、醤油の品質向上に威力を発揮する。

今後、新規醤油乳酸菌スターターを利用することで、安定した醤油醸造が可能となる。県内で製造された醤油に含まれるヒスタミン濃度が低減され、更なる品質向上を達成することができれば、より厳しい衛生管理が求められる海外市場での販路拡大などにつながるものと期待している。

※本稿は、調査月報 359 号（一般財団法人みやぎん経済研究所 発行）に寄稿した内容を基に作成したものである。

参考文献

- 1) 田上秀男：醸造協会誌，112，179-192 (2017)
- 2) 袴田雅俊，上村慎子，遠藤衛作，大坪倫子，杉山直人，鈴木邦明：醤油の研究と技術，42，61-66 (2016)
- 3) 植木達朗，片岡由希子，脇山元気，案浦謙二，大場和徳，野田義治：醤油の研究と技術，42，155-160 (2016)
- 4) 高山清子，福良奈津子，山本英樹，水谷政美，岩佐達也，児玉崇，吉田秀恵：醤油の研究と技術，45，265-273 (2019)
- 5) 福良奈津子，水谷政美，喜田珠光：宮崎県工業技術センター 食品開発センター 研究報告 65，51-54 (2021)

