

氏名(本籍) 高 木 兵 治

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 251 号

学位授与年月日 昭和 58 年 12 月 8 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 農家自家醸造味噌の実態と減塩がそれらの品質に及ぼす影響

論文審査委員 (主 査)

教授 木村修一 教授 金田尚志

教授 山内文男

# 論文内容要旨

## 序 論

近年、水田利用再編対策の重点作物として大豆の転作が積極的に進められ、良質な日本産大豆の利用開発が重視されてきた。一方、日本型食生活からは米の消費量と関連が深い味噌が食塩摂取量と栄養バランスの保持の点から注目されている。

味噌は、現在でもなお、わが国の食生活の中で重要な位置を占める伝統的な食品である。従って、その品質の向上をはかる技術的開発や熟成過程の解析、栄養的役割、調理特性など数多くの研究が行われ、近年、とくに低食塩化の課題が注目されてきた。

佐々木（昭31年）は、食塩濃度の地域差と脳卒中死亡率に正の相関関係があることを認めた。この頃から、味噌の減塩化の課題が積極的にとり上げられ、さらに、昭和54年には厚生省が、適正摂取量を1日10g以下に決めた。このことから食品の減塩化、食塩の適正摂取量の課題はより一層重視され、多角的にその検討が進められてきた。

この研究は、このような情勢の中で、農家における味噌消費の実態把握を試み、農家自家醸造味噌の品質がどのようなものであるのか、さらにまた減塩の実態とその品質に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。その結果、味噌の消費量が比較的高い東北地域では自給割合が高く、また、自家醸造味噌は製造法や熟成期間などがそれぞれに異なり、品質も多種多様であることが分った。とくに、食塩含量の幅は広く、自家醸造味噌の品質に重大な影響をおよぼしていることを認めた。すなわち市販味噌にはみられない多量のアミン類が存在することを見出した。その量は疫学的にも、また、食品栄養の面からも問題となる量であった。これは、特異的な熟成現象によるものと考え、その要因の解析を試み、興味ある知見をうることができた。

## I 味噌の生産と消費の実態

味噌の工業的生産量は、年々漸増の傾向を示し、現在約60万t となっている。その内訳は米味噌が約80%、麦味噌、豆味噌がそれぞれ約10%であり、米味噌生産量のうち70%が信州味噌系統で占められている（表1）。

表-1 味噌の生産量

年 度	生産量 (千t)	米味噌 %	麦味噌 %	豆味噌 %
昭 35	505	75	14	11
41	510	78	10	12
45	552	83	10	7
50	561	82	11	7
53	567	79	11	10
55	579	79	11	10

味噌の食塩含量の平均値は、米味噌が12.5%で、麦味噌、豆味噌はそれぞれ約11%である。生産量の伸びは、食塩含量約10%の減塩味噌で大半が占められている。

味噌の自給的生産量は整備された統計がなく、味噌工業協会では60万t以上と推定しているが、国の統計数値からの推定量は約30万tである。なお、昭和55年度の農家の味噌自給割合は、昭和55年度が50%であり、前年度よりも1%減少している。しかし、消費量の多い秋田県、宮城県の自給割合は、現在においても95%以上となっている。

味噌の消費量は、年次別、地域別、県別でかなり異なり、また、家族の食習慣の相異による差も著しい。年次別には、昭和30年以降から年々漸減の傾向を示し、地域別には消費量の多い地域の減少が著しく（図1）、たとえば、東北地域では昭和30年度は50g以上も消費していたが、昭和55年度には22gに減少した。

佐々木は、東北地域の味噌消費量が特に多いことから、その食塩量に注目し、脳血管疾患による死亡率との関連を検討した。その結果、味噌の食塩濃度あるい

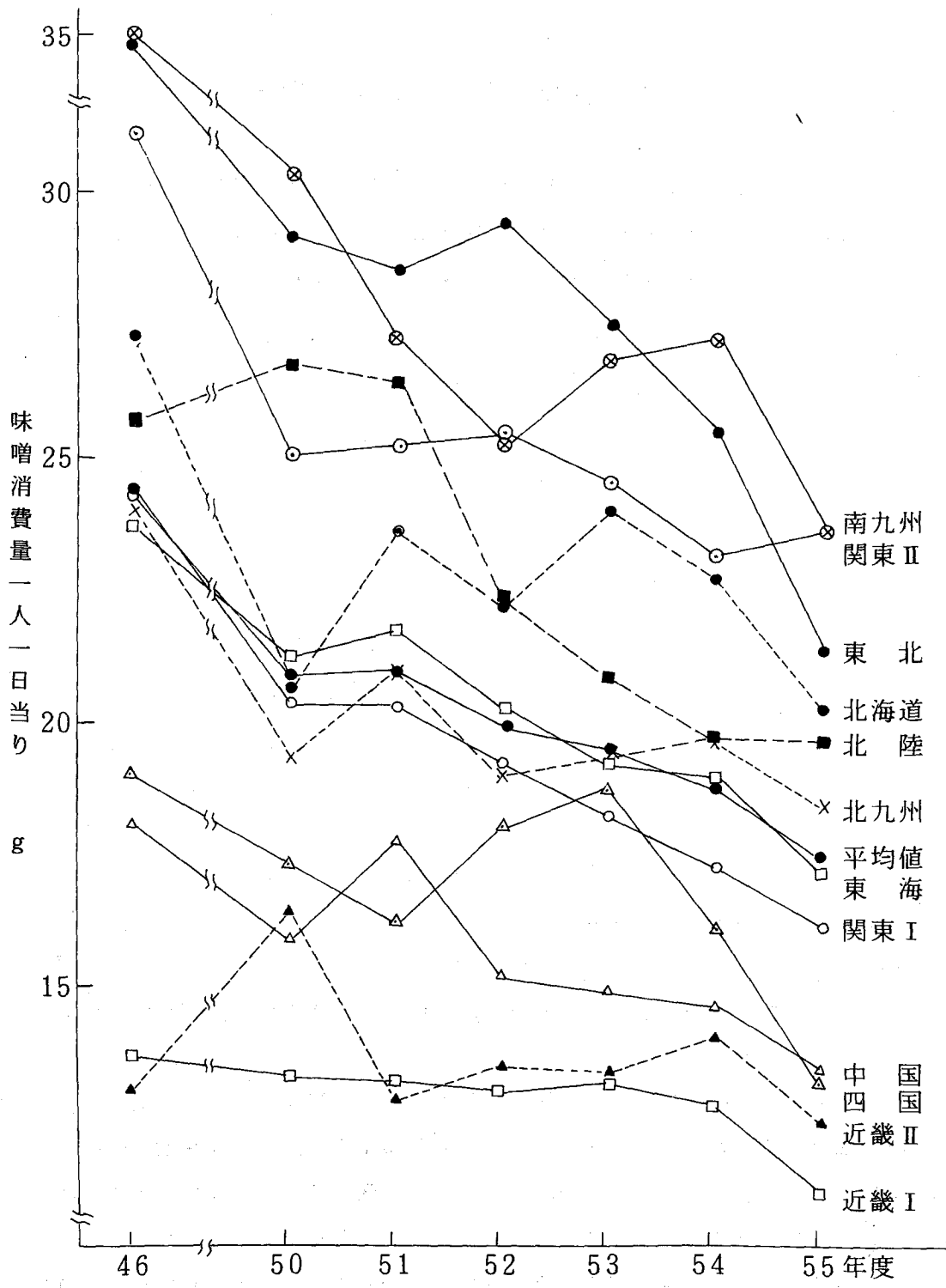


図-1 地域ブロック別にみた味噌消費量の推移

はその消費量と脳血管疾患の死亡率の間には、高度の正の相関が認められ、このことから、味噌の減塩が主張され、さらに農家の減塩味噌造りが指導されてきた。

脳血管疾患の発症には遺伝的因子や環境的要因が絡み、最近、木村らは、食生活における食塩摂取との関連で、脳卒中・高血圧の発症要因に関する既応の成果とその問題点を整理した（昭56年）。その中で、脳卒中・高血圧症の発症は病理学的にも、生理学的にもかなり複雑で、特に遺伝的素質と摂取食品の栄養バランスの関連が重要なことを明らかにしている。

これを年代的な推移の面から考察すると、食生活パターンや摂取食品の栄養バランスは、戦後著しく変化し、現在のそれは、高度の相関関係が得られた昭和35年当時とはかなり異なっている。米や味噌、漬物の消費量は約30%減少し、肉・卵乳類は3倍以上も増加してきた。このような状況の変化をもとにして、統計数値からみた味噌消費量と脳血管疾患による死亡率の相関の推移を調べた。また、摂取食品の栄養バランスとの関連、Na/K比や蛋白質量などとの相関も検討した。その結果、各県別の味噌消費量と脳血管疾患による死亡率の相関は、昭和31、35年にそれぞれ0.81、0.77の係数を示したが、昭和52、55年度には0.35、0.18と著しく低下し、昭和52年度は5%以下の危険率で正の相関が得られたが、昭和55年度は全く相関が得られなかった。

## II 自家醸造味噌の品質と栄養成分の変動

### 1. 農家自家醸造味噌の実態と品質

埼玉，群馬，栃木，岩手，山形の各県から自家醸造味噌を蒐集した。

その配合割合は，一般的には麴，大豆，食塩の容量比率が1：1：0.7となっているが，供試味噌のその比率はかなり変動していた。いわゆる塩切歩合と麴歩合からみた食塩過多の味噌が，全体の90%を占めていることが分った。表2は埼玉，群馬両県の事例で食塩過多のものが多いいことを示している。なお，塩切歩合と麴歩合から算出した食塩量の評価は，麴，大豆の使用量に対する食塩配合比であり，種水量は含まれていない。味噌の品質に影響を与える種水の使用量は，不明の試料が多く，既知の場合も味噌の硬さから一定していないことが認められた。

表-2 地帯別にみた味噌原料の配合割合

		例数	大豆	麴	食塩	麴歩合	塩切歩合	
							A	B
埼玉産	水田地帯	14	1	1.06	0.67	10.8	6.2	3.6
	畑地帯	14	1	1.22	0.84	12.1	7.0	3.3
栃木産	水田地帯	6	1	0.79	0.49	7.8	7.3	5.4
	畑地帯	18	1	1.10	0.49	10.9	4.2	4.0
	山間地帯	10	1	0.94	0.39	9.5	4.5	4.8

注 麴歩合 =  $\frac{\text{白米および精麦重}}{\text{丸大豆重}} \times 10$

塩切歩合 A =  $\frac{\text{食塩重}}{\text{白米および精麦重}} \times 10$       B =  $\left(\frac{50}{\text{麴歩合}}\right) - 1$

A=B 理想的配合  
A>B 食塩過多  
A<B " 過小

原料の単位換算(1斗当り)

大豆 13.1kg, 小麦, 大麦 14.3kg, 精麦 15.0kg, 食塩 12.0kg

官能的品質は良好ではなく，色調，香氣，呈味，硬度などいずれも異常を示すものが多く，旨味，甘味をもつ良好なものはきわめて少なかった。これらのことは，麴の加水分解活性が低いこと，配合割合とくに食塩と種水の不適正，水分含量の高い野菜類の漬込み，食塩の不均一な分布などが起因しているものと考えられ，

地帯別にみた供試味噌の一般成分の変動の大きさからもその実態が認められた(表3)。それぞれの成分含量の最高値、最低値からW値 ( $\frac{\text{最高値} - \text{最低値}}{\text{最高値}} \times 100$ ) を求めて、その変動性を表現した。水溶性全糖、総酸の変動がかなり高く、このことは全塩量の差による影響が大きいと思われた。

表-3 地帯別にみた供試味噌の一般成分

	例数	水分 %	食塩 %	蛋白質 %	水溶性 全糖 %	総酸 %	pH	水溶性-N 全N %	アミノ-N 全N %
埼玉県産	28								
水田地帯	14	57.7	15.80	9.47	3.08	0.85	5.16	55.2	28.8
畑地帯	14	58.5	17.24	9.80	4.63	0.86	5.06	54.3	16.7
W %		26.4	36.6	34.9	94.7	60.5	31.0	43.5	72.5
群馬県産	34								
水田地帯	6	54.2	13.35	10.20	10.14	1.13	5.15	67.3	19.4
畑地帯	18	52.7	14.10	10.72	7.51	1.01	5.20	54.6	17.5
山間地帯	10	56.8	15.18	11.29	5.04	1.02	5.20	48.1	23.4
W %		20.9	36.6	40.1	96.9	71.8	16.5	62.5	60.2

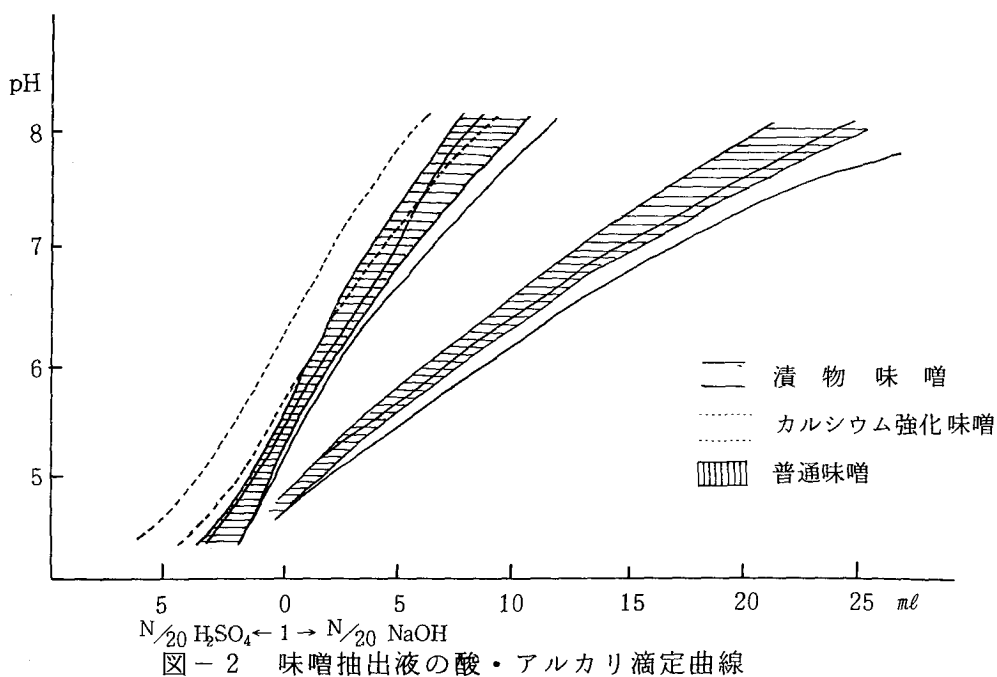
注 W% =  $\frac{\text{最高値} - \text{最低値}}{\text{最高値}} \times 100$

次に、蒐集試料と市販試料について一般成分の比較を試みた。その結果、水分と食塩の含有量は市販味噌と比較して顕著に高く、また、その変動幅も大きい数値を示した。味噌の蛋白質含量は、配合割合や種水使用量と関連し、農家の味噌は市販味噌と比べて、水分と食塩の含量が高いため、概して低い傾向を示した(表4)。

味噌の蒸留水抽出液の酸・アルカリ滴定曲線は、その傾斜度から2種類に分類でき、傾斜度の急なI群はカルシウム強化味噌と普通味噌とからなり、傾斜の緩やかなII群は普通味噌の一部と漬物味噌とからなる。熟成の良好な味噌はいずれもI群に属し、また、水分含量が高く、異常醗酵した味噌はいずれもII群に属し、しかも、その傾斜が緩やかであった。このことから、適定曲線は農家自家醸造味噌の品質判定の良好な指標となりうることを認めた(図2)。

表-4 市販味噌の一般成分

	水分 %	食塩 %	蛋白質 %	水溶性 全糖 %	総酸 %	pH	水溶性-N 全N %	アミノ-N 全N %	対水食塩 濃度 %
八丁味噌	48.5	9.58	20.13	1.33	3.07	5.36	36.8	24.2	16.5
	50.6	13.36	21.51	1.80	2.82	5.40	50.5	26.8	20.9
信州味噌	49.6	9.76	13.69	7.93	0.82	5.60	32.9	20.2	16.4
	52.3	12.01	12.38	7.82	1.09	5.40	52.6	28.4	18.7
佐渡味噌	50.7	11.20	14.22	6.57	1.05	5.40	43.0	23.2	18.1
	50.0	10.79	13.38	7.76	1.03	5.44	77.6	22.2	17.7
仙台味噌	50.2	11.35	12.75	5.58	1.20	5.35	82.3	19.2	18.4
	52.4	12.38	12.86	7.65	1.48	5.42	54.4	20.0	19.1
越後味噌	55.3	11.87	11.41	2.76	0.76	5.00	66.7	29.8	17.7
越中味噌	48.4	11.12	10.94	11.32	0.65	5.33	77.7	23.0	18.7
名古屋味噌	49.4	10.29	18.94	10.67	1.15	5.40	75.9	24.4	17.2
八丁味噌(まがひ)	51.5	10.85	14.06	5.44	1.29	5.10	40.9	32.2	17.4



## 2. 自家醸造味噌の熟成過程における成分の変動

前節においてサンプリングした自家醸造味噌の品質は悪く、不均一であることが分ったが、その理由としては原料の配合比のふれが大きく、また、その熟成過



程における管理もそれに大きく関与していると思われる。そこで、醸造期間別にその成分、とくにアミノ酸組成の変動を追跡することにした。表5に麦麴味噌の事例を示した。熟成期間中のアミノ酸の損失をその配合割合から求めた蛋白質中の必須アミノ酸量の推定値と比較した。その結果、配合比が1:1の麦味噌蛋白質中のアミノ酸推定量は、ロイシン8.6、イソロイシン4.6、リジン6.5、メチオニン1.4、フェニルアラニン5.0、スレオニン3.7、トリプトファン1.2、チロシン4.4、バリン5.0であり、醸造期間中に含硫アミノ酸、トリプトファンの損失割合が高く、その他のアミノ酸の損失は比較的少ない傾向を示した。これらの結果は、麦味噌においてトリプトファン、含硫アミノ酸以外のアミノ酸含量は熟成期間によって、それ程大きな変動のないことが示され、アミノ酸の損失は熟成期間よりも水分量や食塩量の影響が大きいと思われた。また、米味噌のアミノ酸含量も麦味噌と類似の傾向を示した。

表-5 麦麴味噌の必須アミノ酸含量 (蛋白質中のアミノ酸%)

試料No	Leu.	Ileu.	Lys.	Met.	Cys.	Phe.	Thr.	Tr p.	Tyr.	Val.	醸造期間		配合比
											年	月	
9	8.2	4.3	6.4	1.2	1.4	5.0	3.6	1.2	4.5	4.9	4		1:1
127	7.1	4.1	6.1	1.1	1.3	5.1	2.9	0.7	3.4	4.3	1.4		"
8	8.6	4.1	6.1	1.0	1.0	4.5	3.3	1.2	4.3	5.1	2.4		"
122	6.5	3.9	5.9	1.1	1.3	3.9	3.1	0.7	3.4	4.1	3.6		"
94	7.8	5.0	6.6	1.2	1.5	4.8	3.5	0.8	3.7	4.0	1.0		"
93	7.5	5.0	6.1	1.3	1.3	4.7	3.4	1.0	4.1	3.9	1.8		"
1	8.5	4.5	5.7	1.1	1.5	4.5	3.6	0.8	4.0	4.7	2.8		"
124	8.3	4.8	6.4	1.2	1.4	5.3	3.8	0.8	4.5	4.9	2.1		"
5	7.7	4.6	5.1	0.9	1.4	4.6	3.3	0.6	3.3	4.7	2.0		"
M	7.8	4.5	6.0	1.1	1.3	4.6	3.4	0.9	3.9	4.5			
±σ	±0.65	±0.38	±0.42	±0.11	±0.14	±0.40	±0.26	±0.21	±0.45	±0.42			
84	6.8	4.4	4.8	1.3	1.1	4.1	3.0	0.7	3.5	3.6	1.4		1:3.7
81	7.0	5.0	5.6	1.2	1.3	5.3	3.5	1.0	4.2	4.0	2.1		1:5.5
113	7.4	4.9	6.5	1.3	1.5	5.1	3.6	0.8	4.0	4.9	3.1		1:0.5
106	7.2	4.1	5.6	1.3	1.3	5.1	3.4	0.7	3.6	4.6	3.0		1:0.3
M	7.1	4.6	5.6	1.3	1.3	4.9	3.4	0.8	3.8	4.3			
±σ	±0.22	±0.37	±0.60	±0.04	±0.14	±0.47	±0.23	±0.12	±0.29	±0.51			

### Ⅲ 味噌の食塩含量とその品質との関係

前章において農家自家醸造味噌の品質調査の結果、食塩含量に著しい幅がみられた。これは、当時減塩の指導が積極的にすすめられたことと関連している。しかし食塩含量の低いものには風味の悪いものが目立つことから、ここでは、味噌の品質に及ぼす減塩の影響を調べることにした。

#### 1. アミンの含量

農家から蒐集した147点の味噌について、チラミンあるいはヒスタミンの含量を測定した。その結果、これらの味噌に含まれるチラミン含量は、痕跡程度から53mg%の範囲におよび、その平均値は9mg%であった。とくに、30mg%以上のチラミンを含む味噌は全体の約10%を占めた(図3)。ヒスタミン含量は、痕跡程度から28mg%の範囲におよび、その含量が10mg以下の味噌が全体の80%を占め、20mg%以上の味噌が占める割合は6%であった(図4)。

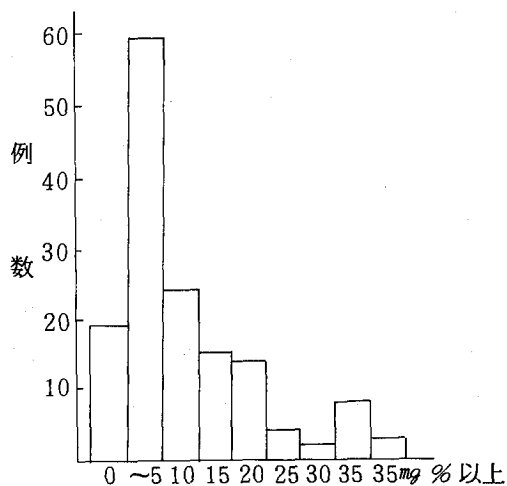


図-3 供試味噌のチラミン含量

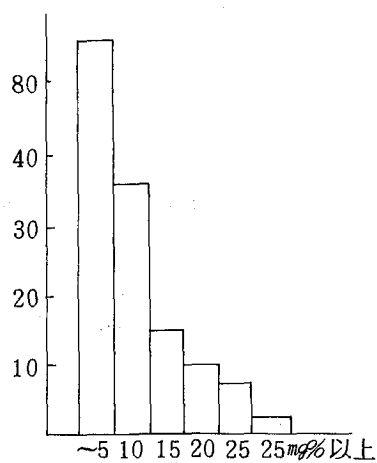


図-4 供試味噌のヒスタミン含量

参考のため、市販味噌9点について、その含量を調べた結果、チラミンは1.6~5.4mg%、ヒスタミンは0~3.5mg%で、顕著に含有するものはなかった(表6)。

岩手、山形県産の試料については、この他にトリプタミンの測定を試みた。その含量が顕著に高い事例を表7に示した。その結果、トリプタミン、チラミン、ヒスタミンの含量は、試料によりかなり異なり、その最高値はトリプタミンではNo.28で7.7 mg%，チラミンはNo.23で125 mg%，ヒスタミンはNo.24で83.4 mg%であった。チラミン及びヒスタミン含量がとくに高いNo.23, 24の試料を用いて遊離のチロシンとヒスジンを調べた結果、定性的にはその存在を殆んど確認することができなかった。

表-6 市販味噌のチラミン・ヒスタミン含量 (mg%)

種 類	チラミン	ヒスタミン	種 類	チラミン	ヒスタミン
八丁味噌	3.5	1.5	越後味噌	3.2	0
信州味噌	2.7	1.0	越中味噌	1.6	0
佐渡味噌	5.4	2.3	名古屋味噌	3.1	1.0
〃	3.9	0	八丁味噌(まがい)	3.2	3.5
仙台味噌	3.2	0			

表-7 自家醸造味噌のアミン含量と一般性状

試料	トリプタミン	チラミン	ヒスタミン	水分	食塩	全窒素	pH	全酸度	水溶性N 全 N	アミノ-N 全 N
9	0.8 <sup>mg%</sup>	13.8 <sup>mg%</sup>	36.0 <sup>mg%</sup>	58.7%	14.3%	1.55%	5.41	17.9	49.5%	28.9%
23	2.2	125.0	77.6	57.1	13.4	1.89	5.29	17.5	44.9	39.4
24	5.1	7.7	83.4	63.1	12.0	1.64	5.20	17.1	59.7	45.3
28	7.7	25.3	66.3	56.7	12.0	1.92	5.18	18.6	54.6	31.9
39	6.8	5.0	20.9	56.1	18.0	1.92	6.71	11.3	61.5	48.2
32	2.9	41.5	35.0	56.8	13.0	1.96	5.30	20.0	52.1	32.2

## 2. アミン含量とその他の成分との関係

アミン含量と他の成分との相関をみるために、水分、食塩、pH、全酸度などを測定した。その結果、アミン含量とこれらの測定値は無関係であることが分った。また、味噌の種類、熟成期間とも関係が認められなかった。そこで、チラミン含量の高いAグループとそれを含まないBグループに分け、一般成分の比較を試みた結果、チラミン含量の高い味噌では、水分含量が高く、食塩含量の低い傾

向が得られた。チラミン含量と酸化還元電位との間には、はっきりとした関連は得られなかったが、水素イオン濃度の場合は、pHが高い場合にチラミン含量の若干低い傾向が認められた（表8）。抽出液の酸、アルカリ滴定曲線（図2）の傾斜度の緩急とチラミン含量の関係は、傾斜が緩やかな場合にその含量が高い傾向を示した。

表-8 チラミン含量と一般成分の関係

試料	例数	チラミン mg%	ヒスタミン mg%	水分 %	食塩 %	全窒素 %	直糖 %	pH	抽出液 pH	Eh mv	対水食塩 濃度 %
A	12	32.8	18.5	58.0	12.6	1.64	7.8	5.07	5.32	-27	17.8
B	11	0	4.4	50.9	14.4	1.44	13.9	5.65	5.44	-29	22.1
委託製麴											
A <sub>1</sub>	3	32.2	15.0	56.1	14.0	1.74	7.3	5.47*	6.04	-25	20.0
B <sub>1</sub>	5	0	5.8	51.0	13.5	1.35	15.1	5.00	5.38	-25	20.9
自家製麴											
A <sub>2</sub>	9	33.0	17.8	58.7*	12.1*	1.60	7.9	4.94	5.77	-41	17.1
B <sub>2</sub>	6	0	3.2	50.8	15.1	1.48	13.0	5.04	5.48	-33	23.0
自家製麴+漬物											
A <sub>3</sub>	5	35.8	18.0	59.8	11.0	1.52	8.6	4.83	5.02	-36	15.5
B <sub>3</sub>	2	0	3.1	52.3	16.7	1.42	10.9	4.70	4.89	-49	24.2

注：試料A チラミン20mg%以上の味噌 A<sub>1</sub> Aの中で委託 A<sub>2</sub> Aの中で自家製麴  
 B チラミンを含まない味噌 B<sub>1</sub> Bの中で委託 B<sub>2</sub> Bの中で自家製麴

$$\text{対水食塩濃度} = \frac{\text{食塩}\%}{\text{水分}\% + \text{食塩}\%} \times 100$$

\*危険率5%で有意

### 3. アミン含量と食塩含量との関係

チラミン含量が高い場合は、水分含量が高く、食塩含量の低い傾向が得られたが、この場合は、製品としての味噌中の含量であり、原料配合時の食塩含量および種水量を必ずしも反映していない。そこで、この条件を反映している対水食塩濃度、すなわち、 $\frac{\text{食塩}\%}{\text{水分}\% + \text{食塩}\%} \times 100$ を算定して、これとアミン含量との相関をみることにした。その結果、表9にみるように、対水食塩濃度が20%を下まわる場合にアミン含量がきわめて高いことが分った。したがって自家醸造味噌の仕込みの場合の必要食塩量は少くとも対水食塩濃度21%以上であるといえる（表9）。そこで、味噌の水分含量に応じた食塩含量を求めた（表10）。従来、農家の味

噌の配合割合は、その配合比からみて食塩過多のものが90%以上と指摘されていたが、対水食塩濃度24%と仮定すると、その過多は10%以下であり、逆に食塩過少（19%と仮定）が30%以上となり、逆の問題点を見出した。

表-9 自家醸造味噌の必要対水食塩濃度 (%)

計算式	チラミンを含有しない食塩量	チラミン含量がきわめて低い食塩量	自家醸造味噌の目標値
対水食塩濃度 = $\frac{\text{食塩}\%}{\text{水分}\% + \text{食塩}\%} \times 100$	24	22	21

表-10 対水食塩濃度から求めた味噌の食塩量 (%)

対水食塩濃度	味噌の水分含量			
	48	50	55	60
20	12.0	12.5	13.8	15.0
21	12.8	13.3	14.6	15.9
22	13.5	14.1	15.5	16.9
23	14.3	14.9	16.4	17.9
24	15.2	15.8	17.4	19.0

#### 4. チラミンの生成微生物の分離とチラミン生成の機構について

味噌におけるチラミンの生成微生物とその条件を推定するために、製麹過程の試料として種麹，味噌熟成過程の試料としてチラミン含量の高い味噌を用いた。その主要微生物を分離し、チラミンの生成能力を調べた。

種麹から *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.* などを分離し、その生成を調べた結果、いずれもチラミンを生成しないことを認めた。また、これらの糸状菌は、製麹過程にチラミン生成細菌を接種し、細菌が生成したチラミンを比較的速やかに分解した。

味噌からの分離微生物として酵母，好気性細菌，乳酸菌と既知細菌とを用いて、それぞれ液体培地におけるチラミンの生成量を調べた。その結果、酵母，好気性細菌はいずれもチラミンの生成がほとんど認められないが、好気性細菌のうち *Bacillus sp.* は菌株により培地の栄養条件で、僅かにチラミンの生成が認められた。乳酸菌は、多数の菌株でチラミンの生成が認められたが、その多くは生成量

が比較的低い菌株で占められていた。また、チラミンを全く生成しない菌株でも培地の栄養条件を変えることにより、その生成量が顕著に増加する場合が認められた。味噌に含まれる *Streptococcus faecalis* (*Sc. faecalis*) は基質に添加したチロシンを完全にチラミンとし、チロシンを添加しない培養菌体でも脱炭酸酵素の活性はかなり高い数値を示した。表11は、培地の種類による菌体量とそのアセトン標品の酵素活性を示したものである。培地の添加物の種類により菌体量が変動し、また、その活性の変動は菌体量よりも顕著なことを認めた。

次に、味噌は食塩量によりそのマイクロフロラを調節していることから、乳酸菌の耐塩性とチラミン生成の関係を調べた結果、チラミン生成乳酸菌は、培地の栄養条件により、耐塩性の増加する菌株が得られた。これらの菌株のチラミン生成量は顕著に低下した。この現象は酵素の産生が低下したものではなく、ピリドキサルの不足によることを認めた。耐塩性が増加した菌株 (T) は、アミノ酸の要求性の一部が変化し、菌体成分にも若干の変化が認められた。すなわち、灰分含量、全脂質とくにアセトン不溶性脂質の含量およびそのP/N モル比、磷含量、リボ核酸含量などが増加した (表12)。

表-11 培地の栄養条件とチロシン脱炭酸酵素の活性

培地条件	1-14		1-31		1-35		<i>Sc. faecalis</i>	
	菌体重 mg	チラミン μg	菌体重 mg	チラミン μg	菌体重 mg	チラミン μg	菌体重 mg	チラミン μg
Y	44.6	15	33.0	29	47.8	78	36.4	435
YCa	51.8	69	47.2	31	50.2	154	44.2	418
B	27.4	82	28.4	44	25.9	182	16.2	269
BCa	42.0	175	32.8	69	37.0	210	24.2	274
BY	36.0	80	31.4	32	40.4	174	23.9	296
BYCa	64.4	126	49.9	50	68.2	216	48.0	226
BYR	29.0	96	34.8	64	44.6	126	33.0	254
BYRCa	64.9	104	50.8	72	65.0	210	46.9	242
BYP	59.6	28	34.6	8	55.2	71	25.0	186
soya	50.2	82	38.0	19	45.1	164	32.6	75

注: 培地条件 ペプトン1%, ブドウ糖1.5%, 食塩1%, これを基本に次のものを添加した。Y 酵母エキス1%, B 肉エキス1%, BY 酵母エキス, 肉エキス0.5%宛, Ca 炭酸カルシウム0.2%, R 大根搾汁10%, soya 大豆100g 煮熟濾液濃縮物10%, P  $K_2HPO_4$ 0.4%  
チラミン アセトン標品mg当りのチラミン産生量 μg

表-12 耐塩性の増加と菌体の化学的組成の変化

供試菌株	灰分	脂 質				アセトン不溶性脂質				核 酸	
		全脂質	アセトン 可溶性	アセトン 不溶性	全窒素	N	P	P/N ratio	md phos	RNA	DNA
1-14	10.3	3.32	0.92	2.40	10.07	1.03	3.00	1.3	2.41	5.6	1.6
1-14(T)	9.3	4.97	1.30	3.77	9.20	1.41	2.62	7.9	2.32	6.2	1.6
1-31	10.2	4.34	0.94	3.40	10.64	1.60	1.95	5.4	2.02	7.2	1.1
1-31(T)	12.3	6.36	1.28	5.08	9.07	0.93	2.20	11.7	3.16	7.7	1.3
1-35	10.4	2.36	0.90	1.46	10.27	2.10	2.56	5.5	2.27	7.6	1.0
1-35(T)	11.3	3.82	0.96	2.76	9.84	1.19	3.23	11.9	2.71	8.4	1.2
<i>sc. faecalis</i>	9.9	2.53	0.93	1.50	10.66	2.80	4.97	7.5	3.57	8.7	1.4
<i>sc. faecalis</i> (T)	13.1	2.95	1.18	1.77	13.02	2.92	6.02	9.0	5.05	10.7	1.3

続いて、味噌におけるチラミンの生成を調べるため、水分と食塩を所定の濃度に調整し、味噌から分離した *Sc. faecalis* を接種し、さらに炭酸カルシウム、大根搾汁など種々の添加物を加え、乳酸菌の生育し易い条件の味噌を仕込み、添加物とチラミン生成の関係を調べた結果、各実験区ともそのチラミンの生成量は低く、数mg%以下であった。そこで、チラミンを含有しない味噌の食塩量を増減させ、添加物との関係を追試してみた(図5)。その結果、対水食塩濃度が14%の場合は、いずれも、かなりのチラミンを生成し、炭酸カルシウム、ブドウ糖などの添加はその生成を顕著に促進させたが、対水食塩濃度が22%になると、これら

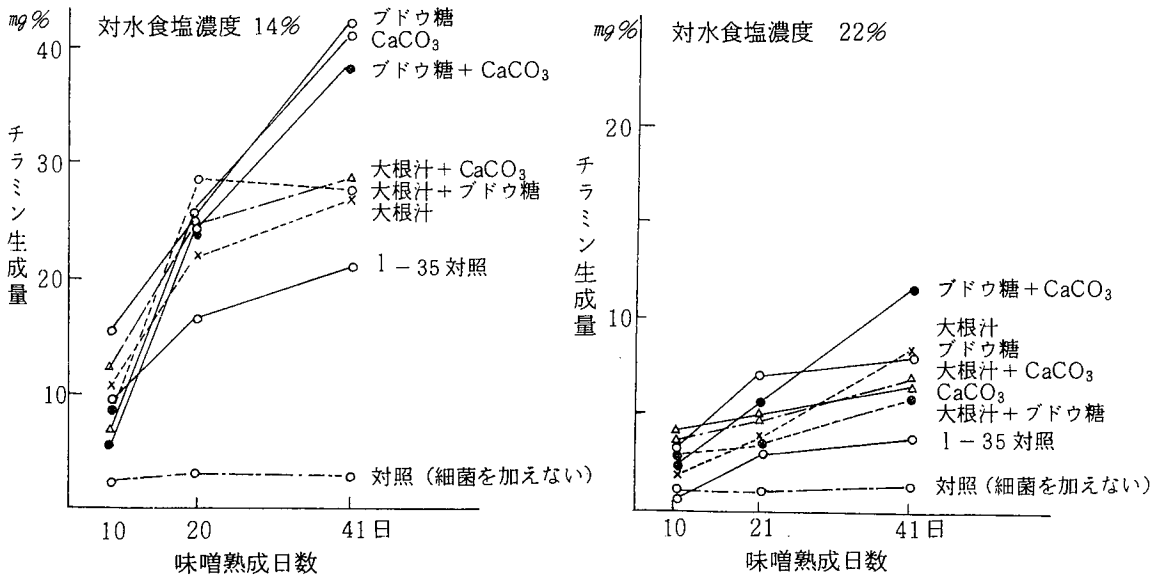


図-5 味噌の添加物とチラミンの生成

の添加物によるチラミンの生成量は著しく低い数値を示した。このことはチラミン生成の主要因が低食塩にあり，その他の栄養成分はそれを修飾するに過ぎないことを示している。

### 5. トリプタミンの生成におよぼす食塩濃度の影響

トリプタミン含量の高い味噌の微生物群を用いた生成実験では，トリプタミンをかなり生成したが，分離した好気性細菌や乳酸菌は，いずれもトリプタミンを生成しない菌株が多く，また，その培養条件や基質組成をかえてもトリプタミンの生成量は低く，添加トリプトファンに対して1%以下であった。

そこで，酵母エキスをを用いて，トリプタミン産生促進物質を検索した。酵母エキスにはトリプタミンの生成を促進する因子があり，その成分の分画を試みた結果，塩基性画分のチラミン，ヒスタミンが有効であった。この他にビタミンとしてニコチン酸，ピリドキサルに生成促進作用のあることを見出した（表13）。

表-13 基質の栄養条件とトリプタミンの産生 (mg/tube)

基質条件	供 試 乳 酸 菌					基質条件	供試枯草菌		
	Sc.f	L.a	Leu.m	l-20	l-22		b-1	b-6	
ペプトン(P)	0	0	0	0	0	ペプトン(P)	0	0	
P+	ニコチン酸	0.48	0.68	0.10	0.01	0.72	ニコチン酸(N)	0.28	0.26
	ピリドキシン(Pin)	0.12	0.19	0.05	0.04	0.14	N+ピリドキシン	0.16	0.05
	ピリドキサル	0.29	0.43	0.29	0.20	0.24	N+ピリドキサル	0.59	0.90
	チラミン(T)	0.53	0.79	0.15	0.05	0.84	チラミン(T)	0.32	0.28
	T+Pin	0.10	0.28	0.01	0.01	0.04	T+ピリドキシン	0.16	0.02
	T+ピリドキサル	0.26	0.44	0.30	0.53	0.22	T+ピリドキサル	0.66	0.80
	ヒスタミン(H)	1.14	1.24	0.14	0.05	0.17	N+T	0.26	0.01
	H+Pin	0.20	0.10	0.02	0.01	0.04	N+T+ピリドキシン	0.20	0.01
	T+H	1.08	0.88	0.07	0.09	0.32	N+T+サイアミン	0.22	0.02
	T+H+Pin	0.17	0.14	0.01	0.01	0.02	N+T+フラビン	0.20	0.20
	酵母エキス	0.32	0.26	0.34	0.14	0.24	酵母エキス	0.76	0.63

反応条件：菌懸垂液 0.2 ml, 0.02 M DL-トリプトファン・5%ペプトン混液 0.5 ml, 基質添加物・0.05 M 磷酸緩衝液 0.5 ml, トルエン下に30℃, 48h. インキュベート, 添加物：試験管当り, ヒスタミン 0.1 mg, チラミン 0.2 mg, ニコチン酸, ピリドキシン, ピリドキサル, サイアミン, フラビン 10 μ

供試菌株：Sc.f. … *Streptococcus faecalis* R, L.a. … *Lactobacillus arabinosus* 17-5  
Leu.m … *Leuconostoc mesenteroides* P-60, … 乳酸菌, b … 枯草菌



次に、トリプタミンの生成反応は、チラミンの生成後に進行するものと仮定した実験を試みた。その結果、ペプトンとトリプトファンの基質では、トリプタミンを生成しないが、この基質にチラミンを添加した場合、あるいはチロシンを添加してチラミンが生成する条件を与えた場合にはトリプタミンの生成が著しく増加することを見出した（表14）。

続いて、液体培地を用い、食塩濃度とトリプタミン生成の関係を調べた。その結果、いずれの菌株も食塩濃度の増加にともないトリプタミンの生成は急激に減少し、食塩濃度12%以上では *Sc. faecalis* を除いて、その生成が完全に抑制された。

表-14 アミノ酸脱炭酸酵素の誘導性

(%)

反応系	菌株	Sc. f	L. a	Leu. m	l-20	l-22	b-1	b-6
アミノ酸単独の場合								
チラミンの生成	対 照	100	0	0	0	100	10	26
	ペプトンの添加	100	19	0	0	100	78	67
	酵母エキスの添加	100	79	45	52	100	87	87
トリプタミンの生成	対 照	0	0	0	0	0	0	0
	ペプトンの添加	0	0	0	0	0	0	0
	ペプトンの添加 チラミンの添加	58	84	16	5	91	35	30
	酵母エキスの添加	35	28	37	28	26	60	52
チロシン・トリプトファンを加えた場合								
チラミンの生成	対 照	100	0	0	0	100	34	20
	ペプトンの添加	100	36	3	3	100	88	56
	酵母エキスの添加	100	74	41	70	100	100	89
トリプタミンの生成	対 照	0	0	0	0	0	0	0
	ペプトンの添加	37	6	11	21	20	53	49
	酵母エキスの添加	47	17	14	23	37	46	38

※ 添加基質量に対する生成アミン量

## 6. 味噌におけるアミン生成機構

アミン含量の高い味噌の性状は、水分含量が高く、食塩含量の低い傾向が認められた。チラミン含量の高いものは、全窒素とpHの値が低い傾向を示し、トリプタミン含量の高いものはその逆に高い傾向を示した。

分離細菌の実験では、培養条件や基質の組成により、114 菌株のうち約20%の菌株でチラミンの生成がみられ、チラミンの生成は、構成酵素による場合と誘導酵素による場合があり、誘導酵素によるチラミンの生成は食塩による抑制がきわめて高いことを認めた。*Bacillus sp.* の一部は、液体培地の栄養条件や添加物の種類でチラミンを顕著に生成するが、食塩濃度が高くなるとその生成は完全に抑制された。

*Streptococcus sp.* の一部は、培地の栄養条件と関係なく、チラミンを顕著に生成し、食塩濃度による抑制も若干低い傾向を認めた。

この菌株を味噌に接種した場合、その食塩濃度が低くなるとチラミンの生成は著しく増加した。

分離菌株 122 株の一部で僅かにトリプタミンの生成が認められ、*Streptococcus* の一部はチラミンの存在でその生成が著しく増加した。また、この菌株によるトリプタミンの生成は糖の存在で抑制され、乳酸塩の存在で促進する傾向が認められた。

供試菌株の脱炭酸酵素の至適 pH は、菌株の種類で多少異なるが、チロシン脱炭酸酵素では pH 5.0 ~ 6.0 であり、トリプトファン脱炭酸酵素では pH 6.5 ~ 7.5 の範囲のものが多く、一般的には *Streptococcus sp.* でその値が低く、*Bacillus sp.* で高い傾向を示した。

これらの結果から、味噌におけるアミンの生成を次のように推定した (図 6)。すなわち、水分含量が高く、食塩含量が低い場合、その分布が不均一な味噌において、原料仕込時に混入したチラミン生成能が高く、食塩耐性をもつ *Sc. faecalis* によりチラミンを蓄積し、そのチラミンが関与して、*Sc. faecalis* または *Sc. faecium* がトリプタミンを生成したものと推定した。

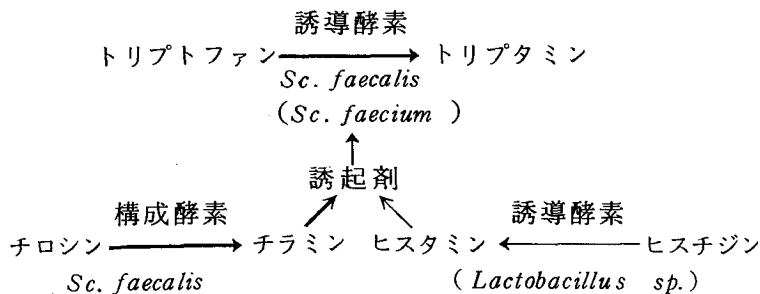


図-6 味噌におけるアミン生成の推定

## IV 要 約

わが国の食塩摂取量は、ここ数年漸減傾向を示している。農家の食塩摂取量は都市勤労者と比較して約20%高く、その減塩の課題が、減塩し易い農家の味噌や味噌汁を飲まない運動として展開し、行き過ぎの傾向がある。

味噌の減塩には、かなり高度の技術が必要であり、しかも保存性の点で問題が残る。農家の味噌醸造技術は必ずしも優れたものではなく、伝統的味噌醸造技術の改善としての減塩には無理があり、酸敗の危険性がある。そこで、自家醸造味噌の改善指導に役立つ基礎的資料を得ることを目的として農家の味噌の実態を調べた結果、その品質はきわめて不均一で、その要因として食塩含量の影響が大きいと考え、食塩と味噌の品質の関係を調べた。

(1) 味噌の生産と消費の実態 味噌の工業的生産量は約60万tであり、農家の自給的生产量は約30万tである。また、その自給率は約50%となっている。なお、現在、各県当りの味噌消費量と脳血管疾患による死亡率との間には相関が認められないことを明らかにした。

(2) 味噌の品質と栄養成分の変動 農家の味噌は水分、食塩含量の変動幅が大きく、熟成は不十分であり、その品質は良好でない。熟成過程における必須アミノ酸の損失は、その食塩含量が低くない限り比較的少ないことを認めた。

(3) 味噌の食塩含量とその品質の関係 供試味噌のアミン含量を測定し、チラミン、ヒスタミン、トリプタミンの分布状態を調べた。味噌の一般成分との関係では、チラミン、ヒスタミン含量の高い味噌は、対水食塩濃度、全窒素、pHが低く、トリプタミン含量の高い味噌は全窒素、pHで逆の傾向が認められた。

チラミン含量と食塩含量の関係から、チラミンの生成が困難な食塩含量を推定し、対水食塩濃度を22%とした。

アミンの生成機構を調べるため、アミン含量の高い味噌からチラミン、トリプタミンの生成細菌を分離し、味噌及び液体培地中におけるアミンの生成を調べ、味噌におけるその生成の推定を試みた。チラミン含量の高い味噌から *Streptococcus* 属、*Lactobacillus* 属、*Bacillus* 属など分離した。チラミンの生成は多くの菌株

で認められたが，チラミンの多量の蓄積はその食塩耐性とチロシン脱炭酸活性とから *Sc. faecalis* と推定した。また，*Sc. faecalis* はチラミンの存在でトリプタミンの生成を促進することが分かり，トリプタミンの生成も *Sc. faecalis* による可能性があることを推定した。

ここに得られた結果から，対水食塩濃度が低い味噌では，その熟成過程においてアミン生成でみられたような異常代謝物質の蓄積の危険があり，無原則的な減塩の推進には問題が多いと考えている。

## 審査結果の要旨

日本人の脳卒中死亡率が高いのは、食塩摂取の多いことと関係しているという疫学調査に端を発し、減塩が叫ばれるようになったのは昭和30年代であった。とくに農家の自家醸造味噌の食塩濃度の高いことが指摘され、地域によっては自家醸造味噌についての減塩指導が行われ、さらには味噌汁を減らす運動にまですすむといった現象もみられた。本研究はこのような情勢の中で農家自家醸造味噌の実態をさぐり、減塩がこれにどのような影響を及ぼしているかを明らかにする目的で始められたものである。本研究ではまず、東北、北陸、中国、九州地方などの農家ではいぜんとして自家醸造に依存している割合のたかいことをたしかめ、各地からサンプリングした自家醸造用味噌の中には、品質のよくないものが少なからず存在していることを示した。そしてこの原因が、大豆と麴との原料の割合や熟成期間などよりも、食塩濃度の低いことともっとも関係のあることを明らかにした。すなわち対水食塩濃度として20%以下になるとチラミン、ヒスタミン、トリプタミンの生成が多くなることを見出し、これらアミンの生成を起さない自家醸造味噌をつくるための対水食塩濃度の目標値として22%という値を提唱した。ついでこれらアミン生成の機構を追究するため、味噌からチラミン、トリプタミンなどを生成する細菌を分離し、味噌および合成培地中でのアミン生成を検討した。その結果、アミン生成菌の主要なものとして *Streptococcus faecalis* を分離した。またこの菌では、チラミンの存在下でトリプタミン生成酵素が誘導されることを見出した。また味噌におけるアミン生成は、各種栄養成分によるよりも食塩濃度の低いことがもっとも重要な条件であることを明らかにした。

味噌の減塩には高度の技術が必要である。とくに味噌漬を漬けることの多い農家の自家醸造味噌の製造にあたっては、この点をとくに留意すべきことを本研究は指摘している。味噌汁はいぜんとして農家における重要な栄養給源である。脳卒中の生因には、遺伝的な因子や食事の蛋白質レベル、各種のビタミン含量など食塩以外の栄養的因子も関与していることが次第に明らかにされている。無原則的に自家醸造味噌の減塩化を推進することに対して警告を発した本研究は、実践的な意義をもつだけでなく、栄養学分野に新しい知見を加えたといえる。よって本論文の著者に農学博士の学位を与える資格が充分にあると判定した。