

## 身近で活躍する有用微生物 食品と有用微生物－和食文化と微生物4

# 醤油と味噌の微生物

おぐま てつ や  
小 熊 哲 哉  
Tetsuya OGUMA

### はじめに

醤油と味噌は、食事の基本調味料の語呂合わせ「さしすせそ」(「さ」(砂糖)「し」(塩)「す」(酢)「せ」(せうゆ；醤油)「そ」(味噌))の中の「せ」と「そ」の部分に挙げられているように、古来より日本人の食事「和食」にとっては欠くことのできない基本調味料であり、われわれ日本人の生活に密接にかかわってきた。2013年12月に「和食；日本人の伝統的な食文化」がユネスコ無形文化遺産に登録されたことにより、醤油や味噌は海外でも一層注目されるようになってきている。本章では醤油と味噌の製造にかかわる微生物に関して、分子生物学的な知見から現場的な応用に関する知見に至るまでを、夫々の調味料毎に分けて記述する。

### I. 醤油の製造

醤油は、大豆および小麦を加熱処理により変性させたものに、麹菌を生育させた「麹」と食塩水を混合して約半年程度醸造醱酵する中で、麹菌の生産する加水分解酵素群により大豆の蛋白質や小麦の澱粉がアミノ酸やグルコースに分解され、これらを醤油酵母や醤油乳酸菌が資化することで酵母醱酵と乳酸醱酵が行われて醤油独自の色、味、香りが形成された後、濾布などで固体と液体を分離して液体部分を取り出し、さらに液体から不溶物を珪藻土濾過などで除去した清澄な液体である。製品として出荷する際に一般的には、さらにより濃厚な醤油香や色をつけること及び商業的滅菌も兼ねて加熱処理を行うが、近年では加熱処理を行わない生醤油も出荷量が

増えてきている<sup>1)</sup>。本項目では、醤油製造にかかわる微生物に関してこれまで明らかになっているいくつかの知見を紹介する。

#### 1. 醤油製造にかかわる微生物

##### 1) 麹菌

明治時代中頃までは、良好な麹を一部残しておき、それを新しい原料に混ぜて麹を作る方法が一般的であり、これを友麹と呼んでいた。その後、明治時代末期頃より、友麹の代わりに麹から分離して、より純粋化した麹菌が種麹として使用されるようになりこれが現在まで続いている<sup>2)</sup>。醤油醸造に用いられている麹菌は、*Aspergillus oryzae*と*A. sojae*である<sup>3)</sup>。麹菌以外の黒麹菌や他の*Aspergillus*属での醤油醸造の検討が行われたが、黒麹菌はクエン酸を多量に生成するため、ポン酢醤油のような風味の醤油となり、結局は上述の2種類の麹菌が、醤油醸造に最も適した菌であると考えられる<sup>4,5)</sup>。

醤油づくりに於いては、古来より「一麹、二糶、三火入れ」と言われ、麹菌と原料穀物から構成される麹が、醤油の品質に最も影響を及ぼすと考えられている<sup>6)</sup>。上述した2つの麹菌の大きな違いは、*A. oryzae*が強力な蛋白質分解酵素であるアルカリプロテアーゼ、中性プロテアーゼ、酸性プロテアーゼ等のエンド型プロテアーゼ群、および、アミノペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ等のエキソ型プロテアーゼ群とともに、エンド型アミラーゼである $\alpha$ -アミラーゼ、及びエキソ型アミラーゼであるグルコアミラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ等、比較的強い澱粉分解酵素群をそれぞれ複数保持しているのに対して、*A. sojae*は、*A. oryzae*と同様に強力な蛋白質分解酵素群をそれぞれ複数保持しているが、澱粉分解

酵素群が弱い点である<sup>7)</sup>。これらの麹菌のゲノムはすでに解読されており、基本的に麹菌は約 38 メガ bp 程度の染色体 DNA を有しており、遺伝子の総数としては約 12,000 個程度存在している<sup>8,9)</sup>。また加水分解酵素群の遺伝子の数は、両麹菌とも上述した蛋白質分解系の酵素がそれぞれ複数の遺伝子で存在し、合計 130 個程度とほとんど同数である<sup>9)</sup>。一方、澱粉分解にかかわる澱粉分解酵素群の遺伝子は、*A. sojae* にはそれぞれ一種類程度しか存在しておらず、*A. oryzae* に比べて澱粉分解酵素の遺伝子が少ないという特徴が明らかになっており、上述した両菌種の蛋白質分解系と澱粉分解系の特徴を遺伝子レベルの側からも明確に裏付けている<sup>9)</sup>。また、グルタミンからグルタミン酸を生成するグルタミンナーゼ遺伝子は、麹菌では 6～7 種類存在しており、多重遺伝子破壊株によりどのグルタミンナーゼが醤油醸造に寄与しているかが特定されている<sup>10)</sup>。さらに、上述の 2 菌種は、アフラトキシン産生菌である *A. flavus* と高いゲノムの相同性があり、一時期、アフラトキシン産生の可能性が懸念されたが、培養物の解析から決してアフラトキシンを産生しないことが横塚らの研究で判明しており<sup>11)</sup>、さらに松島らにより、ゲノム解析の結果からもアフラトキシン生合成系の一部の遺伝子が不完全なため、アフラトキシンを産生しないことが証明されている<sup>12)</sup>。したがって、麹菌は安全な微生物であることが確認されており、米国薬品省 (FDA) において GRAS 認定されている。

阿部らは、緑茶、花、稲穂等自然界から分離した麹菌 (*A. oryzae*) 8 株のアフラトキシン合成クラスタホモログ塩基配列解析を行い、6 株がアフラトキシン合成クラスタをすべて持つ G1 タイプ、2 株がクラスタの一部が欠損している G2 タイプであると報告している<sup>13)</sup>。

一方、斉藤らは、アフラトキシン産生菌である *A. flavus* および *A. parasiticus* の茨城県および千葉県のおける畑土壌における分布を調査した結果、茨城県内では調査土壌の 22.4%、千葉県内では 27.0% から *A. flavus* が分離され、*A. parasiticus* が茨城県内の土壌 1 試料から分離された。これらの分離株のアフラトキシン産生について調べた結果、*A. flavus* 9 菌株および *A. parasiticus* 1 菌株がアフラトキシンを産生すると報告している<sup>14)</sup>。したがって、アフラトキシンを産生する *Aspergillus* 属は、われわれの身の回り

でそれほど珍しいわけではなく、種麹に使用する麹菌は汚染の無いようにきちんと管理することが大切である。

麹菌の遺伝子組換え技術は、麹菌が多核なため、一つの遺伝子を組換えるためには、純化操作によりすべての核で組換えが行われた株を取得する必要がある、極めて難易度の高い組換え対象微生物であった。近年、高橋らにより、非相同組換え遺伝子である *Ku* の破壊株を用いることで、相同組換えの効率が飛躍的に改善する技術革新がなされ、麹菌の組換え研究が大きく進展した<sup>15)</sup>。高橋らは、さらにこの技術を進展させ、遺伝子操作によりゲノムの任意の大領域を削除する技術も開発した<sup>16)</sup>。本技術を使うことにより、現状では安全性が確認されているが、機能不全であったアフラトキシンの生合成系が、何らかの原因で機能回復することで、アフラトキシンを突然産生する可能性の懸念を完全に払拭するために、アフラトキシン生合成系の遺伝子群を丸ごと削除した麹菌も造成されている<sup>17)</sup>。より高い安全性を求めるならばこのような菌株を用いることが醤油製造にとっても好ましいが、食品にかかわる遺伝子組換え技術に対するパブリックアクセプタンスの観点からは、しばらくは静観状況が続くと想定される。

近年の麹菌のトピックスとしては、これまで麹菌は不完全菌類に属しており、有性生殖の世代はないと考えられていたが、同じ *Aspergillus* 属の *A. nidulans* においては、有性世代が見つかることから麹菌も有性生殖の世代がある可能性が示唆され、研究が進展している<sup>18)</sup>。具体的には、有性生殖に必要な接合型遺伝子 *MAT* の存在とその機能性に関する研究が進行中である<sup>19,20)</sup>。ゲノム解析の結果 *A. oryzae* RIB40 には *MAT1-1* 遺伝子のみが存在することが明らかになっており、和田らは *A. oryzae* AO6 株に *MAT1-2* 遺伝子を見出した。麹菌 180 種の接合型を確認したところ、酒や味噌に利用される株では約 1 : 1 で両接合型が存在したが、何故か醤油用菌株では *MAT1-2* に偏っていたと報告している<sup>20)</sup>。以上の結果により、麹菌が有性生殖を行うポテンシャルをもつことが明らかになってきており、今後の研究の進展が待たれる。

## 2) 醤油酵母

醤油醸造にかかわっている酵母は、清酒の酵母と同様、古くは野生の酵母が蔵付き酵母として仕込み

桶に住み着いたものであり、それが醤油の特徴的な香りを生成することにより、各仕込み蔵特有の品質に大きく影響を及ぼしてきたといわれている。醤油酵母は大きく主醱酵酵母の *Zygosaccharomyces rouxii* と熟成酵母の *Candida* 属 (*C. versatilis*, *C. etchellsii* 等) に分けられる<sup>21)</sup>。*Z. rouxii* の特徴は、麹菌の酵素で澱粉が分解されて生成したグルコースから、清酒の酵母と同様にエタノールを生成すること、および醤油香の主成分である 4-ヒロドキシ-2 (または 5)-エチル-5 (または 2)-メチル-3 (2H)-フラノン (HEMF) を生成することである<sup>22)</sup>。Uehara らは、*Z. rouxii* のアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子 *Adh 1* を破壊することで、アルデヒドを蓄積させることにより著量の HEMF を蓄積できることを明らかにした<sup>23)</sup>。一倍体である *Z. rouxii* のゲノムはすでに解読公開されている<sup>24)</sup>。末澤らは、醤油と味噌の醱酵酵母 *Z. rouxii* および近縁の *Z. mellis* 併せて 46 株の 26S リボゾーム RNA 遺伝子の D1D2 ドメイン、5.8S リボゾーム RNA 遺伝子の Internal Transcribed Spacer 1 (ITS 1) および ITS 2 配列を解析し、その配列解析結果に基づき *Z. rouxii* を 7 種類のタイプに、*Z. mellis* を 2 種類のタイプに分類した<sup>25)</sup>。その結果の中で、*Z. rouxii* の 7 種類のタイプには、これまで *Z. rouxii* と分類されてきたが新種やハイブリッドが混在していることを示唆していると報告している<sup>25)</sup>。同様な可能性が、酒類の製造に使用されている *Saccharomyces* 属においても指摘されており、標準酵母である *Saccharomyces cerevisiae* のゲノムが解読公開されているのに対して、特にビール製造に使用されている下面醱酵酵母である *S. pastorianus* は、*S. cerevisiae* の約 2 倍のゲノム量を有しており、その内訳は、*S. cerevisiae* と 100% 近い相同性を示す *S. cerevisiae* (Sc) 型ゲノムと、80% 前後の相同性を示す Non-*S. cerevisiae* (Non-Sc) 型ゲノムを有することが判明した。また、染色体乗り換えと考えられる、Sc 型と Non-Sc 型配列が連結した染色体 (Sc/Non-Sc 型染色体) が少なくとも 9 種類存在し、さらに Sc 型もしくは Non-Sc 型が欠失した染色体領域も存在することも示され、複雑なハイブリッドゲノム構造であると考えられている<sup>26)</sup>。したがって醤油製造に用いられる実用醤油主醱酵酵母に関してもまた、ゲノム解読が待たれるところである。さらに分類学上は、*Z. rouxii* に分類されているが、仕込みタンク上面に白い皮膜を形成

する悪玉醤油酵母 (産膜醤油酵母) は、諸味の攪拌を怠ると生育する。本菌が生育すると醤油に異臭を生じるため、本菌の生育は諸味管理の上で注意を要する。渡部らは、醤油酵母の皮膜形成にかかわる遺伝子 *FLO11D* を特定し、この遺伝子の発現制御が浸透圧に支配されていることを明らかにした<sup>27)</sup>。

一方、熟成酵母である *C. versatilis* や *C. etchellsii* は、醤油醸造の仕込み後半から生育が旺盛になり、醤油の特徴香の一つである 4-エチルグアイヤコール (4-EG) や 4-エチルフェノール (4-EP) の生成を初めとして、醤油の多様な香りを生成する<sup>28)</sup>。現在までのところ、これらの菌に関するゲノム情報は未だ明らかにされていない。Feng らは、醤油のフレーバーと品質を向上させるために、*C. etchellsii* を原料醤油に 2 段階接種した。第 1 段階では対数期細胞を接種し、第 2 段階では定常期細胞を接種した。その結果、非接種の場合に比べて、醤油のアミノ態窒素、可溶性無塩固形物および揮発性フレーバー化合物は増加すると報告している<sup>29)</sup>。

### 3) 醤油乳酸菌

醤油の製造にかかわっている乳酸菌は、*Tetragenococcus halophilus* のみである<sup>30)</sup>。この乳酸菌は、糖の資化能に多様性があり、株レベルでは多彩な菌株がある<sup>31)</sup>。一部酢酸も生成するヘテロ型醱酵の菌株の報告もあるが、本菌は基本的にはグルコースから乳酸のみを生成するホモ型醱酵菌である<sup>32)</sup>。本菌は、24% の食塩濃度でも生育が可能な耐塩性乳酸菌であるが、最適な食塩濃度は 5 ~ 10% である<sup>30)</sup>。醤油醸造における本菌の役割は、乳酸を発酵生成することで、諸味の pH を低下させることであるが、さまざまな糖、アミノ酸資化性を示すことで、乳酸由来の酸味以外にも醤油に多様な風味を付与すると考えられている。例えば、醤油乳酸菌には、ある種のアミノ酸を脱炭酸して他のアミノ酸などに分解 (変換) する株、具体的にはアスパラギン酸やアルギニンを別のアミノ酸に分解する能力を有する株が存在する。アスパラギン酸を分解する醤油乳酸菌 (以下、アスパラギン酸分解株) は、アスパラギン酸/アラニン変換系を有し、アスパラギン酸を脱炭酸することで、甘味を呈するアラニンに変換する<sup>32)</sup>。また、アルギニンを分解する醤油乳酸菌 (以下、アルギニン分解株) は、アルギニンデイミナーゼ経路 (ADI 経路) を有しており、アルギニンをオルニチンまで

分解し、アンモニアを生成する<sup>33)</sup>。通常の醤油乳酸菌であるアミノ酸非分解株は、自らの乳酸醗酵によるpH低下によって死滅するが、これらのアミノ酸分解株は酸性物質の分解や塩基性物質の生成によって周辺環境のpH低下を抑制することで、諸味中で長期間に渡って生残することができる。すなわち、これはアミノ酸分解株の環境適応性の高さを示していると考えられる。

増田らは、醤油諸味から分離された乳酸菌151株について、抗アレルギー作用の指標であるインターロイキン12(IL-12)の産生誘導能を測定した。その結果、比較対照として用いた乳製品由来の乳酸菌よりも優れた活性を持つ株が多数存在しており、中でも醤油乳酸菌である*T. halophilus* Th221株が高いIL-12産生誘導能を示すことを発見した<sup>34)</sup>。次いで通年性アレルギー性鼻炎に対する臨床研究で、この*T. halophilus* Th221株を多く摂取したグループで鼻炎に対する自覚症状の改善、医師による鼻症状判定におけるスコアの改善、そしてアレルギー指標である血清総IgE量の低下が確認された<sup>35)</sup>。さらに川島らは、本研究を進め乳酸菌内にある二重鎖RNAが小腸の樹状細胞を活性化してインターフェロン- $\beta$ を産生させることによって、抗炎症効果を発揮すること、腸炎の予防など腸管の免疫レベルの維持に直接関与することを明らかにした<sup>36)</sup>。この性質はこれまで解析したほかの細菌にはみられなかった。乳酸菌が持つ健康維持・増進効果が初めて分子レベルで明らかになったことで、予防医学分野における活用も期待される。また、二重鎖RNAを豊富に含む乳酸菌群が、腸管の免疫を活性化する機能性食品成分となる可能性も考えられるとも報告している<sup>36)</sup>。

## II. 味噌の製造

味噌は、醤油の製造工程と若干異なり、加熱変性処理した米または麦に、麹菌を生育させた「麹」と加熱変性処理した大豆と食塩を混合して仕込まれる。途中で切返しという天地返し工程を含め醸造醗酵する中で、麹菌の生産する加水分解酵素群により大豆の蛋白質や米、麦の澱粉が分解され、分解物を*Z. rouxii*等の酵母類や*T. halophilus*等の乳酸菌が資化することで半年間程度酵母醗酵と乳酸醗酵が行われた後、漉し味噌は漉し機を通してすり味噌に整

えられる。粒味噌はそのまま、製品化される。必要に応じて再発酵を防ぐために酒精(アルコール)を加えるか、加熱殺菌してから包装された後製品として販売される<sup>37)</sup>。基本的に味噌醸造にかかわる微生物は醤油醸造とほぼ同じであるため、本項目では、主に味噌醸造への応用に関する知見に絞って紹介する。

### 1. 味噌製造にかかわる微生物

#### 1) 麹菌

味噌醸造に用いられる麹菌は、醤油の場合と異なりほぼ*A. oryzae*のみである。醤油醸造と同様、味噌醸造においても格言はある。すなわち味噌づくりにおいては「一焚き、二麹、三仕込み」とも言われるように、麹品質と味噌品質の関係は、清酒や醤油ほど密接ではない。実際、清酒用と味噌用の麹菌にはそれほど明確な区別はなく、安平らの研究では、清酒用として市販されている麹菌が味噌、特に淡色味噌の製造に適していることが明らかになっている<sup>38)</sup>。一方、従来から醤油麹菌は米麹製麹時に分生胞子の着生が極めて速く、着生した胞子により味噌の色が黒色化して、商品価値を著しく低下させるため味噌用としての利用はほとんどなされていない。原山らは、香味の単純化による味噌品質の画一化が進行する中で、味噌の香味の多様化を目的に、醤油醸造において特徴ある香味を付与する醤油麹菌の特性を維持しながら、味噌の色への影響の少ない麹菌の開発をめざして検討を行ない、醤油麹菌の白色変異株を造成して味噌醸造への利用を試みた。その結果、白色醤油麹菌を味噌に用いると、色に照り、冴えが増すと共に醤油麹菌固有の濃厚な香味の付与に有効であることを認めた。ただ醤油麹菌は一般に胞子の着生が早く、造成した白色醤油麹菌も例外でなく、製麹条件によっては胞子を着生させることもあり、なかには従来の麹よりもチロシナーゼを多く生成するため逆に麹が褐変する場合もあり<sup>39)</sup>、白色醤油麹菌には一長一短があったと報告している<sup>40)</sup>。

Maruiらは、味噌醸造において呈味成分の分解に関与する酵素について研究を行い、酸性フォスファターゼ活性の低い麹菌(*A. oryzae* KBN8048)の固体米麹培養、固体大豆麹培養における酸性フォスファターゼ遺伝子の発現プロファイルについて比較検討した<sup>41)</sup>。フォスファターゼ活性は、大豆麹培養にお

いて特に低い値であり、味噌の旨みを促進するイノシン酸に対する脱リン酸活性の低下に相関していたと報告している<sup>42)</sup>。戸井田は、特徴のある麹菌の育種について検討し、主に淡色系味噌用としてビタミンB2類の色素生産性が向上した麹菌品種、および主に赤色系味噌用に中性プロテアーゼ生産性が向上した品種をそれぞれ目標として、N-ニトロソグアニジン変異処理によりビタミンB2生産性の高い変異株を2株育種し淡色系味噌を試醸した。得られた味噌は、対照株に比べて約3倍のビタミンB2含量であり、官能評価も概ね良好であった。一方、中性プロテアーゼ生産性の高い変異株1株について赤色系味噌の試醸を実施したところ、プロテアーゼ活性は対照区に比べて1.3倍高く、味噌の色調も冴えの強い結果が得られていると報告している<sup>43)</sup>。

*Aspergillus* 属以外にリゾプス属やモナスカス属の利用も検討されており、原山らはリゾプス属由来の蛋白分解酵素は *Aspergillus* 属に比べ、蛋白質をエンドワイズに切った後のエキソ型分解活性が弱いいため蛋白の溶解率や分解率が低く、過分解となりやすい低食塩味噌には好適と考えられる。またペプチド分子が大きいことで、ドレッシングにしたとき分離しにくく、pHが低いため色が白く仕上がるなどの特徴もあると報告している<sup>44)</sup>。一方、モナスカス属は、その生産する赤い色素やモノコリンという薬効成分に特徴があるが、プロテアーゼ活性が低いいため単独で味噌を造ることは困難と思われる。

## 2) 味噌酵母

味噌に用いられる味噌酵母も、基本的には醤油と同じく *Z. rouxii* と *Candida* 属酵母である<sup>45)</sup>。主醱酵酵母である *Z. rouxii* の役割は、醤油と同じく好ましい味噌の風味とエタノール生成である。言い換えれば味噌の製造、特に熟成中の特徴的な香气成分の形成に対して、味噌酵母は非常に寄与の大きいことが判明している<sup>46,47)</sup>。近年、多くの消費者は塩味が低く、甘口で、好ましい香りの高い味噌を求める傾向にある。これに対応して、味噌は麹歩合を多くし、塩分濃度をできるだけ低下させ、さらに酵母を添加して醸造されるようになった<sup>48)</sup>。菅原らは、1300種の酵母から、「仙台味噌」醸造に適した特に優良な酵母を2種類選抜し、この2種の酵母と実用酵母を添加した味噌を製造した。製品となったそれぞれの味噌の一般成分や色度、香气成分組成を比較し、味

味噌の味や色、香りへの酵母の種類による影響を考察している<sup>49)</sup>。また、醸造後出荷前に加熱処理を行って味噌中の生存酵母を死滅させる場合が多いが、この加熱処理は味噌の風味・色調の劣化を引き起こす。したがって、非加熱で、味噌本来の風味・色調を保持したままの生味噌の出荷が望まれるが、その生味噌は流通段階において味噌中に生き残っている酵母によって微弱に醱酵が進み、炭酸ガス等の発生を引き起こす。この現象は湧きと呼ばれ、結果的に小袋詰形態の味噌では膨れを生じ、商品価値を失う。市販の非加熱生味噌では、味噌中に存在する約2~3%のエタノール(酵母自身が生成したエタノールと添加エタノールの合計)が味噌酵母のエタノール生成を妨げ湧きを抑制しているが<sup>50)</sup>、より低濃度のエタノールで湧きの抑制を行うために、酵母の味噌醱酵熟成過程での醱酵力は従来の酵母と同等で、エタノール耐性だけが低下した酵母が、河村らにより取得された<sup>51)</sup>。近年、戸井田らは自然界から分離した *Z. rouxii* の味噌醸造への可能性を検討し、検討した中の1株が耐塩性で10%NaClでは良好に生育したが、13%、16%では生育が緩慢で耐塩性が低いため通常の「信州味噌」タイプの醸造利用は難しいと報告している<sup>52)</sup>。

## 3) 味噌乳酸菌

味噌の製造にかかわる乳酸菌も、*Enterococcus* 属も検出されるが主になるのは醤油乳酸菌と同様に *T. halophilus* である<sup>45)</sup>。そしてその主な働きも、乳酸を生成することにより、味噌のpHを雑菌が生育しにくい酸性側に低下させることにある。その効果は、適量生成された乳酸が味噌の「塩馴れ」を良くし<sup>53)</sup>、香味のバランスを整え、着色を抑制するなどして以前から味噌のスターターとして利用されてきた<sup>53)</sup>。渡辺は、味噌用に耐塩性乳酸菌を開発し、本菌の利用により味噌の着色抑制効果を実地的な醸造でも十分に確認した<sup>54)</sup>。最近、阿部らは、醸造に於ける乳酸菌のスターターの有用性について微生物制御の観点から検討し、有害微生物の抑制、熟成促進、フレーバー改善、テクスチャー改善等の効果をもたらすこと、そして具体的には豆味噌製造工程において枯草菌増殖抑制効果があると報告している<sup>55)</sup>。

## 4) その他の細菌

乳酸菌ではないが、Yoeらは韓国伝統味噌(Kyeopjang)から *Bacillus subtilis* SCK-2株を分離し、こ

の菌がヒト食中毒の原因菌である *B. cereus* の生育を抑制する活性を有することを示した。さらに生育抑制活性を持つペプチド化合物 (AMP IC-1) を分離精製し、既知の抗菌ペプチドと性質を比較した。その結果、AMP IC-1 は既知の抗菌ペプチドと同様に抗菌活性を示し、蛋白質分解酵素により分解された。AMP IC-1 のペプチド領域は 33 アミノ酸からなり、アミノ酸組成は既知抗菌ペプチドとは異なっていた<sup>56)</sup>。本化合物は、*B. cereus* が原因の食中毒の予防に利用できる可能性が考えられる。

## おわりに

以上、醤油と味噌の製造にかかわる微生物に関して総合的に知見を記述してきたが、これだけわれわれの生活に身近な微生物であるにもかかわらず、研究により明らかになっている知見はほんの一握りの事実過ぎず、まだまだ不十分である。例えば、麹菌の遺伝子は約 12,000 個あることが判明しているが、機能が判明している遺伝子よりも機能未知な遺伝子の方が多い。今後益々研究が進展し、これらが安全な微生物としてわれわれの生活に更に役立つように活用されることを願っている。

## 文 献

- 高付加価値で市場を創出するしょうゆ「和食」の保護・継承へ向け活動展開, 酒類食品統計月報, 2015; **56**(12): 33-44.
- 小栗朋之, 醤油製造技術の系統化調査, 醤油の研究と技術, 2010; **36**(5): 301-316.
- 中台忠信, 醤油麹菌の培養条件による酵素生産(その1), 醤油の研究と技術, 2006; **32**(1): 6-16.
- 永瀬一郎, 各種アスペルギルス属菌使用によるしょうゆ醸造の比較(第2報)(その1)11株のアスペルギルス属菌を使用した準天然醗酵しょうゆの比較試験成績, 調味科学, 1973; **20**(2): 2-15.
- 久寿米木一裕, 焼酎麹菌を用いた低塩醤油醸造, 日本醸造協会誌, 1996; **91**(1): 20-26.
- 中台忠信, 水沼武二, 製麹, 醤油の科学と技術 析倉辰六郎編 日本醸造協会発行, 1988; 80-120.
- 中台忠信, 醤油麹菌の培養条件による酵素生産(その1), 醤油の研究と技術, 2006; **32**(1): 6-16.
- Machida M, Asai K, Sano M, et al. Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. Nature, 2005; **438**(7071): 1157-1161.
- Sato A, Oshima K, Noguchi H, et al. Draft genome sequencing and comparative analysis of *Aspergillus sojae* NBRC4239. DNA Res., 2011; **18**(3): 165-176.
- Ito K, Koyama Y, Hanya Y, Identification of the glutaminase genes of *Aspergillus sojae* involved in glutamate production during soy sauce fermentation. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2013; **77**(9): 1832-1840.
- 横塚保, かびの生産する毒成分と邦産麹菌の aflatoxin 生産性, 調味科学, 1967; **14**(5): 23-37.
- Matsushima K, Yashiro K, Hanya Y, et al. Absence of aflatoxin biosynthesis in *koji* mold (*Aspergillus sojae*). Appl. Microbiol. Biotechnol., 2001; **55**(6): 771-776.
- 阿部真紀, 小針 清子, 秋田 修, 自然界から分離した黄麹菌 (*Aspergillus oryzae*) と醸造用黄麹菌の比較解析, 実践女子大学生生活科学部紀要, 2012; **49**: 7-14.
- 斉藤道彦, 岡崎 博, 田中 健治ら, 茨城県および千葉県内の畑土壌における *Aspergillus flavus* および *A. parasiticus* の分布調査, 食品総合研究所研究報告/農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 編, 2008; (通号72): 77-81.
- Takahashi T, Masuda T, Koyama Y, Enhanced gene targeting frequency in *ku70* and *ku80* disruption mutants of *Aspergillus sojae* and *Aspergillus oryzae*. Mol. Genet. Genomics. 2006; **275**(5): 460-470.
- Takahashi T, Ogawa M, Koyama Y, Analysis of the functions of recombination-related genes in the generation of large chromosomal deletions by loop-out recombination in *Aspergillus oryzae*. Eukaryot. Cell 2012; **11**(4): 507-517.
- 高橋理, 小山泰二, 「染色体大領域の欠失方法」公開特許公報, 2008; 特開2008-263927.
- Seo J A, Han K H, Yu J H, The *gprA* and *gprB* genes encode putative G protein-coupled receptors required for self-fertilization in *Aspergillus nidulans*. Mol. Microbiol. 2004; **53**(6): 1611-1623.
- 山本七瀬, 北本勝ひこ, 麹菌にも有性世代がある? —ゲノム解析から明らかになったこと—, 日本醸造協会誌, 2006; **101**(10): 740-748.
- Wada R, Maruyama J, Yamaguchi H, et al. Presence and functionality of mating type genes in the supposedly asexual filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. Appl Environ Microbiol. 2012; **78**(8): 2819-2829.
- 中台忠信, 主醗酵酵母(その1), 醤油の研究と技術, 2006; **32**(5): 276-285.
- 中台忠信, 主醗酵酵母(その2), 醤油の研究と技術, 2006; **32**(6): 348-360.
- Uehara K, Watanabe J, Akao T, et al. Screening of high-level 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone-producing strains from a collection of gene deletion mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. Appl. Environ. Microbiol. 2015; **81**(1): 453-460.
- Génolevures C, Souciet J L, Dujon B, et al. Comparative genomics of protoploid *Saccharomycetaceae*. Genome Res. 2009; **19**(10): 1696-1709.
- Suezawa Y, Suzuki M, Mori H, Genotyping of a miso and soy sauce fermentation yeast, *Zygosaccharomyces rouxii*, based on sequence analysis of the partial 26S ribosomal

- RNA gene and two internal transcribed spacers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2008 ; **72**(9): 2452-2455.
- 26) 中尾嘉宏, ゲノム解析による実用酵母の特性解明と醗酵技術の展開 ; ビール酵母 *S. pastorianus* の解析でわかったこと, 化学と生物, 2005 ; **43**(9): 559-561.
- 27) 渡部潤, 上原健二, 茂木喜信, 醤油酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* の産膜形成機構の解析 (1), 醤油の研究と技術, 2014 ; **40**(1): 41-49.
- 28) 中台忠信, 熟成酵母 (その1), 醤油の研究と技術, 2007 ; **33**(1): 8-20.
- 29) Feng J, Zhan X B, Wang D, et al. Identification and analysis of the metabolic functions of a high-salt-tolerant halophilic aromatic yeast *Candida etchellsii* for soy sauce production. *World J Microbiol Biotechnol.* 2012 ; **28**(4): 1451-1458.
- 30) 中台忠信, 醤油乳酸菌 (その1), 醤油の研究と技術, 2007 ; **33**(5): 322-334.
- 31) 内田金治, 醤油乳酸菌の糖類醗酵性パターンの多様性とそのフローラ解析への応用, 醤油の研究と技術, 1983 ; **9**(1): 29-35.
- 32) 内田金治, 醤油醸造における乳酸菌の多様性と応用, 日本醸造協会誌, 1982 ; **77**(10): 740-742.
- 33) 小笠原武ら, 醤油及び調味液中の塩基性アミノ酸について (第2報) 醤油醸造中に於けるL-アルギニンの消長, 調味科学, 1962 ; **10**(3): 8-20.
- 34) Masuda S, Yamaguchi H, Kurokawa T, et al. Immunomodulatory effect of halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* Th221 from soy sauce *moromi* grown in high-salt medium. *Int J Food Microbiol.* 2008 ; **121**(3): 245-252.
- 35) Nishimura I, Igarashi T, Enomoto T, et al. Clinical efficacy of halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* Th221 from soy sauce *moromi* for perennial allergic rhinitis. *Allergol Int.* 2009 ; **58**(2): 179-185.
- 36) Kawashima T, Kosaka A, Yan H, et al. Double-stranded RNA of intestinal commensal but not pathogenic bacteria triggers production of protective interferon- $\beta$ . *Immunity* 2013 ; **38**(6): 1187-1197.
- 37) みその製造法, みそ技術ハンドブック 全国味噌技術会編集発行, 1995 ; 14-32.
- 38) 安平仁美, 新しいタイプの味噌, 日本醸造協会誌, 1988 ; **83**(7): 448-455.
- 39) 秦洋二, 固体培養での遺伝子発現解析, 化学と生物, 2001 ; **39**(2): 113-120.
- 40) 原山文徳, 味噌醸造への白色醤油麹菌の利用について, 日本醸造協会誌, 2001 ; **96**(6): 379-385.
- 41) Marui J, Tada S, Fukuoka M, et al. Comparison of acid phosphatase gene expression profiles in solid-state rice and soybean cultures of an *Aspergillus oryzae* strain with low acid phosphatase activity (KBN8048): implications for *miso* brewing. *Food Sci. Technol. Res.* 2012 ; **18**(1): 83-90.
- 42) Marui J, Tada S, Fukuoka M, et al. Reduction of the degradation activity of umami-enhancing purinic ribonucleotide supplement in *miso* by the targeted suppression of acid phosphatases in the *Aspergillus oryzae* starter culture. *Int. J. Food Microbiol.* 2013 ; **166**(2): 238-243.
- 43) 戸井田仁一, 麹菌の育種及びそれを利用したみその色調向上に関する研究, 中央味噌研究所研究報告, 2012 ; **33**: 211-215.
- 44) 原山文徳, 井上等, 安平仁美, *Rhizopus* 属による味噌醸造について (その2), 日本醸造協会誌, 1986 ; **81**(7): 485-489.
- 45) みその微生物, みそ技術ハンドブック 全国味噌技術会編集発行, 1995 ; 45-51.
- 46) 菅原悦子, 味噌・醤油の特有香気成分HEMFの酵母による生成, 日本醸造協会誌, 2013 ; **108**(12): 863-872.
- 47) Ohata M, Kohama K, Morimitsu Y, et al. The formation mechanism by yeast of 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone in *miso*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007 ; **71**(2): 407-413.
- 48) 保坂弘, 酵母添加による味噌仕込試験量 (第1報) 味噌酵母の選択及び培養条件, 日本醸造協会誌, 1956 ; **51**(10): 686-683.
- 49) 菅原悦子, 高橋清, 酵母の種類が味噌の香気成分形成に及ぼす効果, 岩手大学教育学部研究年報, 1998 ; **58**(1): 63-69.
- 50) 中野政弘, 味噌の醸造技術 日本醸造協会編, 1982 ; p112
- 51) 河村大造, 川野一之, エタノール耐性の低下した味噌酵母の分離とその利用, 日本醸造協会誌, 2000 ; **95**(5): 378-382.
- 52) 戸井田仁一, 自然界から分離した酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* の特性, 長野県工業技術総合センター研究報告, 2007 ; No.2 : 156-159.
- 53) 今井学, 味噌への乳酸菌利用, 日本醸造協会誌, 1990 ; **85**(9): 617-622.
- 54) 渡辺隆幸, 有用乳酸菌による味噌の着色抑制, 日本醸造協会誌, 2001 ; **96**(10): 696-704.
- 55) 阿部秀飛, 乳酸菌スターターカルチャーの新たな利用展開, 月刊フードケミカル, 2011 ; **27**(2): 24-27.
- 56) Yeo I C, Lee N K, Cha C J, Narrow antagonistic activity of antimicrobial peptide from *Bacillus subtilis* SCK-2 against *Bacillus cereus*. *J. Biosci. Bioeng.* 2011 ; **112**(4): 338-344.