

醤油製造工程におけるヒスタミン生成菌の迅速検出技術の開発

1. 目的

醤油業界では製造中におけるヒスタミンの蓄積が問題となっている。多量のヒスタミンを摂取すると、頭痛、蕁麻疹等の症状を呈することがあるためである。現状のヒスタミン検出技術は、コストがかかり、施設・操作技術を必要とするため中小企業での試験は困難であった。筆者は以前、ヒスタミン生成時にはCO₂も生成するという特性を利用した、醤油もろみ中のヒスタミン生成株を確認する培養法を開発した。本研究ではこれを応用し、どの企業でも利用可能かつ迅速なヒスタミン生成株検出技術の構築を試みた。

2. 研究内容

醤油醸造に必須の醤油乳酸菌 *T. halophilus* が醤油もろみ中で増殖する際に、ヒスチジン脱炭酸酵素(以下、HDC という)遺伝子を保有するヒスタミン生成株が優勢に増殖することがある。

複数社の醤油もろみから *T. halophilus* を分離し、ヒスタミン生成量を測定すると共に、各社のもろみでの培養法の有効性を確認した。

また、ヒスタミン生成株がヒスタミン生成と同時に生成するCO₂の検出を、これまでのダーラム管に代えてCO₂センサーで行えるか検討した。

3. 結果・考察

○醤油乳酸菌 *T. halophilus* の分離

複数社の醤油もろみから乳酸菌と思われる菌株47株を取得(a1～a44、c1～c3)した。生理試験の結果全て *T. halophilus* であると簡易同定した。47株中12株(a1～a12)がHDC遺伝子を保有するヒスタミン生成株であった。

○培養法によるヒスタミン生成の確認

HDC遺伝子を保有するヒスタミン生成株は、全てダーラム管内にガス(CO₂)を確認。非生成株は全てガス発生がなかった。

県内複数社のそれぞれの菌株で培養法の有効性が確認できた。

○ヒスタミン生成量測定

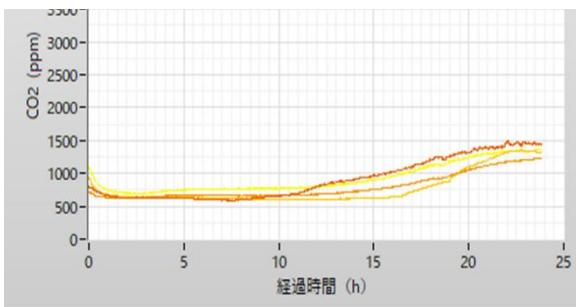
分離したヒスタミン生成株は Positive control(P1、P2)と比較してヒスタミン生成量が少なく、検出感度に影響する危険性がある(表1)。なお、ヒスタミン非生成株は Negative control(N)と同様にヒスタミンは検出されなかった。

表1 分離株のヒスタミン濃度

菌株	ヒスタミン濃度(ppm)	菌株	ヒスタミン濃度(ppm)
a1	114	a13	N.D.
a2	31	a14	N.D.
a3	58	a15	N.D.
a4	60	a16	N.D.
a5	12	c1	N.D.
a6	63	c2	N.D.
a7	18	N (No.2)	N.D.
a8	<10	P1 (No.4)	515
a9	39	P2 (No.6)	201
a10	18		

○培養法の改良

超小型CO₂センサーにて培養中のCO₂濃度を経時的に測定した結果、ヒスタミン生成量の異なる全ての菌株において約12時間～18時間程度でCO₂の増加を確認した(図1)。



供試菌株		
ヒスタミン生成株 (高濃度)	No.4	
	No.6	
ヒスタミン生成株 (中程度)	a1	
ヒスタミン生成株 (低濃度)	a2	

図1 CO₂センサーによる培養時のCO₂濃度測定

ダーラム管に代えて、CO₂センサーを利用して迅速かつ高感度なヒスタミン検出が期待される。迅速な検出により、ヒスタミン対策のより確実な実施につながる。