

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 深見 克哉

魚醤は、古代より魚と塩を原料として作られた伝統的、褐色の液体調味料で、アジア各国で広く用いられ、東南アジアにおいて調理に欠かせない素材である。アミノ酸、ペプチド、ビタミン、ミネラルの供給源としても重要である。いままで魚醤の多くの研究にも係わらず、魚醤中の香気成分の役割は明確でなくかつ、本質的に不快と感じさせる香気成分の特定には至っておらず、その有効な除去方法も見いだされていなかった。本研究は、タイ産の魚醤を対象に、香気成分の同定を試みた。次に、魚醤中の不快と感じる香気成分を除去する目的で、魚醤中より単離した微生物を用いる方法を検討した。さらに、有効と認められた微生物の種属の特定と食品中の分布を明らかにしたもので、得られた研究成果の概要は以下の通りである。

第1章では、タイ産魚醤を対象にパージアンドトラップ(P&T)法を用いて香気を回収し、ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー(GC-MS)で物質を同定した。さらに香気抽出希釈法を用いてスニッフィングによるフレーバー希釈値の測定を行ったところ、希釈値64以上の香気成分として、2-メチルプロパナル(2MPと略記)、2-メチルブタナル(2MB)、2-ペンタノン(2P)、2-エチルピリジン(2EP)、ジメチルトリサルファイド(DMTS)、3-メチルチオプロパナル(3MTP)、イソ吉草酸(3MBA)の7種類を同定した。次に、脱臭した魚醤に脱臭により減少した香気成分を再添加し、定量的記述分析(QDA)法で脱臭魚醤と比較した。その結果、2EPはチーズ臭を強くし、2EPとDMTSは、いずれも魚臭に共役して糞便臭に関与していることが判った。2EPは2MPおよび2MBと共役し、肉感を強くする効果が認められた。さらに4種類の香気成分は、いずれも蒸れ臭に共役して腐敗臭に関与することが明らかとなった。

第2章では、富山県のマルソウダを原料に醤油麹を用いて作成した魚醤がタイ産魚醤に比べ、不快臭が少ないことから、この魚醤もろみに魚醤特有の不快臭の産性を抑制する細菌が存在すると考え、その単離を試みた。22%食塩を含む培地より6株の微生物が単離された。これら単離した菌をタイ産魚醤に添加して香気改良の効果で評価したところ、2株(R4NuとR5G)が選出された。まず、R4Nuを用いてタイ産の魚醤を処理し官能評価したところ、口に入れての評価、臭いを嗅いだときの評価とも、魚臭、蒸れ臭、糞便臭、腐敗臭が軽減するとともに、未処理魚醤に比べて好ましいという評点を得た。魚醤に特徴的な7香気成分の微生物添加による変化を調べたところ、2EP、DMTSはいずれも約1/2に減少し、3MBAはわずかに増加したが、2MP、2MB、2Pおよび3MTPは変化しなかった。さらに上記7成分以外の香気成分で、ジメチルジサルファイド(DMDS)および酪酸(BA)はそれぞれ約1/2および2/3に減少し、3-メチルブタノール(3MBoI)および2,6-ジメチルピラジン(2,6DMPyr)はそれぞれ約10倍および80倍に増加した。次に、R4Nu株による2MP、2MB、2P、2EP、DMTS、3MTP、3MBA、DMDSおよびBAの9香気成分の資化の可能性を検討した。その結果、2MP、2MB、2EP、3MTPおよびDMDSは微生物の作用により減少することが判った。さらに、2MBおよび2MPはそれぞれ、イソロイシンおよびバリンから生成されることが示され、ロイシンから経時的に3-メチルブタナルが生成し代謝産物として3MBoIが生成すること、および3MBoIより3MBAが生成されることが明らかになった。

第3章ではマルソウダを原料に醤油麹を用いて作成した魚醤より単離したR4NuおよびR5Gの種属を決定し、食品中の分布を検討した。生理性状の結果と、16S rRNAおよびrpoB遺伝子の塩基配列を用いて *Staphylococcus* 属のデータベースと比較したところ、単離した2種類の菌は同一種で *Staphylococcus nepalensis* と推定された。最終的にヒマラヤ産山羊の食

道から単離された *S. nepalensis* との DNA-DNA ハイブリダイゼーションから本菌株を *S. nepalensis* と同定した。次に、当該分離菌の *rpoB* 遺伝子の特異的プライマーを設計して、東南アジアより集めた魚醤とマルソウダを原料に製造した魚醤の醤油麹を対象に *S. nepalensis* の分布を調べた。18%NaCl の栄養培地に生育する菌株 37 株を単離し PCR に供試した結果、*S. nepalensis* は魚醤 19 種類からは単離されなかったが、醤油麹からは見つかった。*S. nepalensis* が食品から単離された例は本研究が初めてである。

以上、本研究により、魚醤から 7 種類の特徴的香気成分が特定され、その中の 4 種類の香気成分が、焦げ臭、腐敗臭、蒸れ臭および糞便臭に関与することが見い出された。さらに、魚醤の香気改善能力を示す微生物を、マルソウダを原料とした魚醤もろみより単離し、上述した特徴的香気に対する作用を明らかにした。本微生物は *S. nepalensis* と同定され、伝統的な醤油麹中に由来することが示唆された。これらの成果は魚醤の香気に関する新しい知見を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。