

## 発酵食品に含まれるアミン類

井部 明広

### Biogenic Amines in Fermented Foods

Akihiro IBE

**Keywords:** 不揮発性アミン non volatile amine, 発酵食品 fermented foods, ヒスタミン産生菌 histamine-producing bacteria, チラミン産生菌 tyramine-producing bacteria

#### 緒言

我々は日頃食べている食品からアミン類を摂取している。それらのアミン類は食品の製造原料に元々含まれていたものであったり、あるいは食品の製造工程や保管の際に微生物等により生成されたものを含んでいる。食品の原料として用いる動植物体には生体の生理活性物質やその代謝中間体など常在成分としてのアミン類が既に存在し<sup>1-7)</sup>、それらが食品に混入してくることはありえることである。

一方、食品が腐敗する際に腐敗菌によって生成される、いわゆる腐敗アミン類は古くからプトメイン食中毒、ヒスタミン(Him)などによるアレルギー様食中毒として食品衛生上重大な問題とされてきた<sup>8-11)</sup>。これら食中毒を起こすアミン類は食品が腐敗する際にタンパク質の分解を経て、微生物によるアミノ酸の脱炭酸反応によって生成されることがよく知られている<sup>6,10,12)</sup>。しかしながら日常我々が摂取している食品、特に発酵食品中にも、製造過程中に発酵に関わる微生物の持つ脱炭酸酵素によって産生されたアミン類が比較的多く含まれている<sup>6,7,13-16)</sup>ことはあまり知られていない。食品中のアミン類については Rice ら<sup>7)</sup>の総説や Askar ら<sup>6)</sup>の著に詳しいが、本稿では我が国で消費される発酵食品中の不揮発性アミン類を中心にその含有実態と生成原因について、主に筆者の報告をもとに述べる。

#### 1. 食品中のアミン類による生体影響

アミンとは  $-NH_2$ ,  $=NH$ ,  $N$  と炭化水素をもった含窒素化合物を指すが、特に食中毒を起こすアミン類は食品が腐敗する際にタンパク質の分解を経て、脱炭酸酵素をもつ微生物によるアミノ酸の脱炭酸反応によって生成される。生成されるアミンとその前駆アミノ酸を表1に示した。アミン類の中でも特に問題になるのが、Him やノルエピネフリンとよく似た構造を持つチラミン(Tym)といった、人に対し強い生理活性を持つアミン類である。

1901年腐敗した食物中の血圧上昇原因物質として、Tym、

表1. アミンとその前駆アミノ酸

アミン	前駆アミノ酸
<i>n</i> -アミルアミン	ノルロイシン
<i>iso</i> -アミルアミン	ロイシン
2-メチルプチルアミン	イソロイシン
エタノールアミン	セリン
プロパノールアミン	スレオニン
ヒスタミン	ヒスチジン
チラミン	チロシン
カダベリン	リジン
プトレシン	オルニチン
フェネチルアミン	フェニルアラニン
トリプタミン	トリプトファン
アグマチン	アルギニン

イソアミルアミン (*iso*-Am)及びフェネチルアミン(Phm)が確認された<sup>7)</sup>。これらは同じく食品に含まれるトリプタミン(Tpm)と共に神経系の活性物質として、また、高血圧をひき起こすイニシエーターとして知られるようになった。さらに、Tym, Phm は抗うつ剤などある種の薬品を服用している患者、あるいは感受性の高い人には高血圧や、偏頭痛等を引き起こす原因となることも知られている<sup>6,7,12-15)</sup>。各アミンの人体に対する生理活性を表2<sup>7,18)</sup>に示した。

このように主に血圧上昇あるいは下降等、循環器に対する作用が強い。これは Tym の場合交感神経の末端に働き、ノルエピネフリンをシナプスの間隙に遊離させ、交感神経を興奮させるためである。Tpm や Phm も同様の作用があるといわれている<sup>7,13)</sup>。通常遊離したノルエピネフリンはモノアミンオキシダーゼにより分解される。これら生理活性を持つアミンのうち、特に食品と関連して問題となった例として、抗うつ剤であるモノアミンオキシダーゼ阻害薬

\* 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

表 2. アミン類の生理活性作用

アミン	症状	毒性発現量
チラミン	血圧上昇作用 高血圧症 頭痛 発熱 発汗 嘔吐 (時として)	500mg (経口) 10 ~ 80mg (静、皮下注) 6mg (MAOI服用時、経口) 血圧上昇 25mg( " " ) 重い頭痛
ヒスタミン	毛細血管拡張 低血圧症 吐き気、嘔吐 顔面紅潮 唇の腫れ 激しい頭痛 胃痛、のどのやけつき 渴き、発疹	70 ~ 1000mg (経口)
フェネチルアミン	血圧上昇作用 偏頭痛	3mg (経口)
イソアミルアミン	血圧上昇作用	
セロトニン	頭痛	

(MAOI)や他の治療薬等を服用している患者が、Tym を含むチーズ、Marmite 等の食品を喫食したことにより高血圧、心悸亢進など重篤な症状に陥ったことが報告されている<sup>16,19-21)</sup>。

現在わが国で使われている MAOI は、抗悪性腫瘍薬として塩酸プロカルバジン、パーキンソン病治療薬として塩酸セレギリンが認可されており、これらを服用している患者には Tym を含む食品の摂取には十分注意するよう指示されている<sup>22)</sup>。また、わが国でも現在よく使われている抗結核薬のイソニアジドも MAOI 作用があり Tym の毒性を発現するばかりか、ヒスタミンゼ阻害作用を有することから Him の毒性を高める<sup>22)</sup>。外国の例で、これを服用している患者が 400 ppm の Him を含むチーズを食べて重篤な症状を現した報告もあり<sup>15)</sup>、Him を含む食品の摂取には注意を払う必要がある。この他三環系抗うつ剤も食品から摂取する Tym の作用を増強させる可能性がある<sup>22)</sup>。また、チョコレート中の Phm が頭痛の原因になるといわれ<sup>7)</sup>、食品中のこれらのアミン類は特殊な薬品を服用している患者に限らず、一般の人にもなんらかの影響を及ぼしていることも考えられる。

Him はアレルギー様食中毒の原因物質として古くから知られており<sup>9,11,15)</sup>、Him の毒性は、Him 単独よりも腐敗した食品等を摂取した時の方が強いといわれている。それは、共存する他のアミン類である Tym、プトレシン(Put)、カダベリン(Cad)、スペルミジン(Spd)、スペルミン(Spm)、Phm 等が Him を解毒する酵素を阻害するためといわれ

ている<sup>15,23)</sup>。さらにこれらのアミン類の共存は腸管からの Him の吸収を増加させるため、その毒性を高めるとの報告もあり<sup>24)</sup>、アミン類単独の毒性ばかりでなくアミン相互による毒性の相乗相加作用も懸念されている。アレルギー様食中毒では Him ばかりが目されるが、他のアミン類の存在にも注意すべきである。これらのことは少量ながらアミンを含む通常の食品を摂取していても、報告例がないだけで潜在的に症例が発生しているかもしれない。

一方、食品中の Tym は亜硝酸と反応し変異原性物質を生成することも報告され<sup>25-27)</sup>、それを機に醤油の安全性が論議された<sup>28)</sup>。一般にアミン類は亜硝酸と反応してニトロソ化合物を生成し易いことから<sup>29-33)</sup>、Tym 以外の他のアミンについても同様のことが懸念される。同様にアミン類と食品成分あるいは添加物などの反応によって生成する物質も考えられるが、これらについて安全性を含め明らかではない。さらにアミン類と亜硝酸の反応により有毒なシアンイオンが生成するとの報告もあり<sup>34-37)</sup>、食品に含まれる多種のアミン類の含有量を知ることは食品衛生上重要といえる。

このようにアミン類の毒性は明かであり、また、特定の患者に対して食事(Tym 含有食品)に注意が喚起されているにもかかわらず、チーズの Tym 及び Him を除いて、これまで各種食品中のアミン類含有量の報告は僅かであり、実態はほとんど明らかにされていない。

## 2. 発酵食品中のアミン類含有量

1) チーズ チーズでは外国においてナチュラルチーズの Tym 及び Him について多くの報告があり<sup>6,7,13-15)</sup>, 代表的なチーズについてその含有量を表3に示した. その含有量はチーズの種類によって異なるが, Him で 0~2,600  $\mu\text{g/g}$ , Tym で 0~2,170  $\mu\text{g/g}$  の範囲にある. また, わが国における市販チーズでは, 竹葉<sup>38)</sup>らが Tym について国産ナチュラルチーズ(n=127)で平均値 37.6  $\mu\text{g/g}$ , 最高値 416.7  $\mu\text{g/g}$ , 検出率 48 %, そしてプロセスチーズ(n=62)で平均値 19  $\mu\text{g/g}$ , 最高値 135.0  $\mu\text{g/g}$ , 検出率 100 %, 輸入ナチュラルチーズ(n=20)では特に高かったエメンタルチーズで平均値 790.1  $\mu\text{g/g}$ , 最高値 3,210.4  $\mu\text{g/g}$ , 検出率 100 % と他の食品に比べても高い値を検出している. チーズの種類によって差が大きいが 3,000  $\mu\text{g/g}$  を超えるものがあることを認識する必要がある. この様に Tym, Him については多くの報告があるが, それら以外のアミン類についてはほとんど報告はなく, 僅かに松永<sup>39-41)</sup>らが Tym, Him 以外に Put, Cad, Phm 等の存在を報告しているに過ぎない.

表3. チーズ中のヒスタミン及びチラミン含有量

チーズ	( $\mu\text{g/g}$ )	
	ヒスタミン	チラミン
チェダー	0-1300	0-1500
カマンベール	0-480	20-2000
コルビー	0-500	100-560
ゴーダ	0-850	20-670
モッツアレラ	0	0-410
ブルー	0-2300	27-1100
パルメザン	0-58	4-290
スイス	0	0-1800
エダム	0	300-320
スティルトンブルー	0	460-2170
その他	0-2600	0-660

2) ワイン ワイン中のアミン類については, Askar<sup>6)</sup>, Rice<sup>7)</sup>, Stratton<sup>15)</sup>らの総説に詳しいが, ワイン中のアミンの分析法及び含有量調査は Ough<sup>42)</sup>, Baucom<sup>43)</sup>, Ingles<sup>14)</sup>, 松永<sup>44)</sup>らの報告等いくつかみられる. 含有量は Tym で 0~25, Him で 0~30  $\mu\text{g/g}$  の範囲で検出されている. いずれも Tym, Him を中心とした数種のアミン類を対象にしたもので, 多種類のアミン類を同時に分析し, それぞれの含有量を比較検討した報告は少ない.

そこで, 筆者らはほとんど調査の行われていないアミンを含め, *iso*-及び *n*-Am, Phm, Tpm, Put, Cad, Him, Tym 及び Spd について HPLC を用い輸入品を主に市販の赤ワイン及び白ワイン 75 検体について含有量の調査を行った. 表4にその調査結果を示した<sup>45)</sup>.

ワイン全体を通してすべての試料から検出されたのは Put の一種のみであった. 赤ワインでは, 32 検体中すべての試料から Phm, *iso*-Am, Put, Cad, Tym が検出された. このうち最も含有量が高かったのは Put で平均値で 4.84

表4. ワイン中のアミン類含有量

アミン	( $\mu\text{g/ml}$ )			
	赤ワイン n=32		白ワイン n=43	
	範囲	平均値	範囲	平均値
トリプタミン	0-0.38	0.08	0-0.14	<0.10
フェニルアミン	0.18-5.18	1.34	0-10.4	2.26
<i>iso</i> -アミン	0.08-11.8	1.95	0-31.5	5.11
<i>n</i> -アミン	0	-	0	-
プトリン	0.74-28.6	4.84	0.11-10.4	1.20
カパリン	0.03-0.48	0.22	0-0.38	0.06
ヒスタミン	0-10	1.9	0-9.9	1.1
チラミン	0.13-9.51	1.87	0-7.80	0.98
スペルジン	0-0.81	0.16	0-0.34	0.04

$\mu\text{g/ml}$ であった. ついで高かったのは *iso*-Am, Him, Tym, Phm であった. 白ワインでは, *iso*-Am が最高値を示し, ついで高い含有量を示したのは Phm, Put, Him, Tym であった. 両ワインにおいて比較的高い含有量を示した *iso*-Am, Phm, Put, Him, Tym の5種類のアミンは Him を除き, いずれも検出率も高かった.

また, すべてから検出された Put を除いて, 試料によって検出されたり, されなかったアミンが存在したことは, これらのアミン類は原料由来でなく発酵醸造中に生成されたものと考えられた.

赤ワインと白ワインを比べると, 比較的高い含有量を示した5種のアミン類は両ワインで共通であったものの, 総体的に含有量は白ワインより赤ワインの方が高い傾向が認められた. これはそれぞれの原料に用いるブドウの種類に違いはあるものの, 白ワインでは果皮を除いた果汁のみを醸造原料に用いているのに対して, 赤ワインでは果皮を含めて醸造に用いている違いが現れているものと思われた. すなわち Buteau<sup>46)</sup>ら, Ough<sup>47)</sup>らはワイン中のアミンは主に発酵中酵母あるいは乳酸菌によって産生されることを示唆しているが, このことから果皮に付着したアミン産生菌の混入の確率が高いため, 赤ワインではアミン含有量がより高くなったものと考えられた.

さらに全体的に含有量の高かった赤ワインについて, 産地による差をみるため市販のフランス産 19 検体及びアメリカ, スペイン, 日本の三カ国産 9 検体についても含有量の調査を行った<sup>48)</sup>. その結果, 産地にかかわらずすべての試料から検出されたアミンはやはり Put のみで, 他のアミンについても含有傾向は変わらず, 原産国による差は認められなかった.

3) 紹興酒 最近中国酒も店頭で見受けられる. このうちよく飲まれる紹興酒について市販品 44 検体の各アミン類含有量を表5に示した<sup>48)</sup>. 検体中ほとんど全てから Tym 及び Put が検出され, 他のアミンに比べ高い検出率, 含有量を示した. 検出されたものの平均含有量は Tym で 38.0, Him で 17.7  $\mu\text{g/g}$  であった. Him は検出率では約 30 % と低いものの平均含有量は 9.2  $\mu\text{g/g}$  と Tym, Put について高い値を示した. これらの値はワインと比べても高く, 特に Tym については紹興酒が平均値で赤ワインの約 20 倍

も高く含有していた。紹興酒は原料にうるち米，小麦を主に葉草などが用いられることから，葉草中の Tym の有無は不明であるが，原料から Tym，Him が由来するとは考えにくく，醸造中微生物により生成されたものと思われる。また麹を作るかびも紹興酒では数種知られ，日本酒などの製造と比べて利用する微生物の管理方法及び醸造法が異なることから，アミン産生菌が混入する確率が高いことが考えられた。日本酒については分析数が少なく明言できないが，アミン産生菌が存在すること<sup>49,50)</sup> から Tym が検出される可能性があると考えられる。

4) ビール 市販の輸入ビール 53 検体及び国産ビール 15 検体について各アミン類含有量を表 6 に示した<sup>51)</sup>。全体としてはワインとほぼ同じ含有レベルであった。

輸入品では 98%以上の検出率で Tym，Put，Cad が検出され，次いで Spd，Spm，Him の順で検出率が高かった。Phm はいずれからも検出されなかった。含有量は Tym，Put が他のアミンに比較して高く，平均値はそれぞれ 4.5，

4.3  $\mu\text{g/g}$  であった。ただし Tym では検出幅が大きく 56.8  $\mu\text{g/g}$  を最高に 10  $\mu\text{g/g}$  を超えたものが 5 検体あったものの，その他はほとんどが平均値前後の低い値であった。Him では検出率は低いながらその含有量の平均値は 2.3  $\mu\text{g/g}$  と Cad の 2.8  $\mu\text{g/g}$  と同程度であった。また，Tym のように銘柄によって含有量に差はみられたが，特に生産国の違いによる含有量の差は認められなかった。

国産ビールでは輸入品とほぼ同様のアミン類を検出し，Tym，Put 及び Cad はすべてから検出され，次いで Spd，Spm の順で検出率が高かったが，Him 及び Phm は全く検出されなかった。含有量は輸入ビールでは比較的高かった Tym が国産ビールでは平均値 1.1  $\mu\text{g/g}$  と輸入品に比べ低い値を示し，特に含有量に大きな差はみられなかった。検出された他のアミン類の含有量もほぼ同程度であった。また，今回調査した 15 検体中 14 検体が大手メーカー品で，残りの 1 検体がいわゆる地ビールといわれる小規模製造業によるものであった。これらの間では特に Cad の含有量に

表 5 . 紹興酒中のアミン類含有量

(  $\mu\text{g/g}$  )

	チラミン	ヒスタミン	フェニルアミン	プロレシン	カダベリン	スペルミジン	スペルミン
範囲	ND-99.6	ND-28.0	ND-7.2	1.8-48.7	ND-17.1	ND-3.0	ND-0.4
平均値	38.0	9.2	2.5	17.7	4.1	0.7	0.2
検出率 (%)	97.7	29.5	56.8	100	95.5	81.8	22.7
ND <	0.5	1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1

n = 44

表 6 . 輸入及び国産ビール中のアミン類含有量

(  $\mu\text{g/g}$  )

	チラミン	ヒスタミン	フェニルアミン	プロレシン	カダベリン	スペルミジン	スペルミン
輸入ビール ( n = 53 )							
範囲	ND-56.8	ND-9.0	ND	1.8-12.9	ND-45.9	ND-1.5	ND-18.9
平均値	4.5	2.3	ND	4.3	2.8	0.4	0.2
検出率 (%)	98.1	20.1	0	100	98.1	86.8	49.1
国産ビール ( n = 15 )							
範囲	0.8-1.6	ND	ND	2.9-6.6	0.2-25.5	ND-0.6	ND-0.1
平均値	1.1	ND	ND	4.4	2.0	0.3	0.1
検出率 (%)	100	0	0	100	100	73.3	13.3
ND <	0.5	1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1

大きな差が認められ、地ビールで最高値である 25.5  $\mu\text{g/g}$  検出された。これに対し大手国産ビールの Cad 含有量はすべて 0.2~0.5  $\mu\text{g/g}$  (平均値 0.3  $\mu\text{g/g}$ ) の範囲であった。同様に輸入品でも Cad の場合 10  $\mu\text{g/g}$  を超える高い値を示したのは 3 検体のみでその他のほとんどは 1  $\mu\text{g/g}$  以下であり、それらの平均値は 0.7  $\mu\text{g/g}$  であった。このことは同じビールでも発酵に用いる微生物や原料を含めた醸造法の違いによりアミン含有量に差が現れることが示唆された。また、国産ビールにはいわゆる黒ビールが 3 検体含まれていたが、アミンの種類、含有量ともに一般のビールと差は認められなかった。

5) 味噌 味噌、醤油について松永らは Tym など 7 種類のアミンの分析を行い、いずれからも Tym, Him 等のアミンが存在することを<sup>40,41,52)</sup>、また、高木らは農家の自家製味噌から Tpm, Tym, Him を検出し、それらの含有量の差がそれぞれ製造条件の違いによることを推察した<sup>53-55)</sup>。さらに、アミン類の中では味噌、醤油ともに Tym, Him の含有量が他に比較して高く、醤油で Tym が 1,000 ppm を超えるものがあったことを報告している。醤油についてはこれらの他には数例の報告がみられるのみである<sup>56,57)</sup>。

市販の味噌について、各アミン類の含有量を調査した結果を表 7 に示した<sup>48,58)</sup>。表示に従って米味噌、麦味噌、豆

味噌、及び白味噌に分けてそれぞれ示した。米、麦味噌ではすべてのアミン類が検出されたが、豆味噌では Him が、また、発酵、熟成をほとんど行わない白味噌では Tym, Him 及び Phm は検出されなかった。白味噌を除いた味噌の Tym の含有量は平均値で 92.6~154  $\mu\text{g/g}$  で Him を除く他のアミンに比べて高く、検出率も 67~82 % と Tym, Phm に比べ高かった。また、米味噌では Tym が 1,000  $\mu\text{g/g}$  を超えるものもあった。Him は米、麦味噌にのみ検出され検出率は少ないながら、米味噌では Tym と同じく高い含有量を示した。Phm は含有量、検出率ともに低く、白味噌では Tym, Him 同様検出されなかった。

これに対し Put, Cad, Spd, Spm の 4 者は全体的に検出率は高いが、含有量は Tym, Him の約 1/2~1/100 と低い値を示した。これら 4 者のアミンはいずれの味噌からも一様に検出され、Tym, Him 及び Phm の 3 者に見られるような、味噌の種類による含有量の著しい違いは認められなかった。また、検出されたアミン類のうち、Put, Cad, Spd, Spm は原料からも同レベルで検出されたことから、それらのほとんどが原料由来と考えられた。これらのことから原料にない Tym, Him, Phm は発酵中に生成されたもの、つまり微生物の働きに起因するものと推察された。そしてそれら 3 者の含有量の違いは熟成の有無、材料の違

表 7. 味噌中のアミン類含有量

( $\mu\text{g/g}$ )

		チラミン	ヒスタミン	フェニルアミン	プロレシン	カタバリン	スペルミジン	スペルミン
米	範囲	ND-1011	ND-492	ND-158	ND-134	ND-48.0	ND-39.3	ND-14.8
	平均値	154	167	22.7	23.1	4.0	8.2	2.8
	検出率(%)	82.3	22.9	27.1	95.8	75.0	85.4	43.7
麦	範囲	ND-508	ND-127	ND-16.0	9.1-241	ND-49.7	ND-3.7	ND-1.0
	平均値	146	-	12.1	56.9	22.8	2.1	-
	検出率(%)	71.4	14.2	28.6	100	57.1	71.4	14.2
豆	範囲	ND-147	ND	ND-25.6	2.6-12.3	ND-2.3	2.5-16.2	ND-2.6
	平均値	92.6	-	-	8.2	1.9	10.1	2.4
	検出率(%)	66.7	ND	16.7	100	50	100	50
白	範囲	ND	ND	ND	16.5-143	ND-15.3	ND-33.5	ND-8.6
	平均値	-	-	-	60.4	6.8	14.4	3.4
	検出率(%)	ND	ND	ND	100	66.7	83.3	66.7
	ND <	5	20	2	1	1	1	1

米：米味噌 n=96, 麦：麦味噌 n=7, 豆：豆味噌 n=6, 白：白味噌 n=6

い、熟成方法の違いによって左右されると思われた。

6) 醤油 市販の濃口及び淡口醤油について、各アミン類の含有量を調査した結果を表8に示した<sup>48,58)</sup>。濃口、淡口醤油全てから7種のアミン類を検出した。味噌同様に Tym 及び Him の含有量が他のアミンに比べ高く、平均値で濃口醤油はそれぞれ 416, 219  $\mu\text{g/g}$ 、淡口醤油は 240, 156  $\mu\text{g/g}$  であり、両者を比べると濃口の方が含有量は高い傾向がみられた。これは淡口醤油は濃口に比べ塩分も濃く、より低温で熟成されることから、アミンを産生する微生物の働きに影響を及ぼしていると思われる。

醤油を味噌と比べると、醤油の方が Tym, Him は含有量、検出率ともより高い傾向を示した。一方、Put, Cad, Spd, Spm の4者は濃口、淡口醤油共に検出量及び検出率に差がみられず、醤油の場合も味噌とほぼ同じ原料を使っていることから、味噌と同様これら4者のアミンは原料由来と考えられ、検出された Tym, Him, Phm は発酵中に生成したものと考えられた。

7) 納豆 市販の丸大豆納豆 33 検体、ひきわり納豆 9 検体について各アミン類含有量を表9に示した<sup>48,51)</sup>。丸大豆納豆では Put, Spd, Spm がすべての検体から検出され、含有量は Spd が最も高く平均値で 56.1  $\mu\text{g/g}$  であり、Him, Phm は全く検出されなかった。Tym は 33 検体中 12.1 % の4検体から検出され、検出されたものの平均値は 7.4  $\mu\text{g/g}$  であった。

一方、ひきわり納豆では9検体中丸大豆同様 Put, Spd, Spm がすべてから検出され、Him と1検体を除いて Phm は検出されず、さらに3検体から Tym が検出され、このうち1検体は 1,150  $\mu\text{g/g}$  という高濃度であり、同じ検体から Phm も検出された。

納豆の原料は大豆のみであり、原料の大豆から Tym, Him, Phm は検出されないこと、Put, Cad, Spd, Spm 4者のアミンの含有量が原料大豆の含有量とほぼ同じであることから、これらのアミンは原料の大豆由来であり、Tym は発酵中に生成したものと考えられた。

表8. 醤油中のアミン類含有量

		( $\mu\text{g/g}$ )						
		チラミン	ヒスタミン	フェニルアミン	プトリン	カダベリン	スペルミン	スペルミン
濃口	範囲	ND-1320	ND-827	ND-231	7.5-236	ND-17.1	ND-33.5	ND-6.2
	平均値	416	219	32.0	49.1	5.9	12.1	2.1
	検出率 (%)	97.9	95.8	95.8	100	81.3	93.8	72.9
淡口	範囲	10.9-501	ND-286	ND-22.2	ND-69.8	ND-17.1	3.3-19.1	ND-3.1
	平均値	240	156	16.2	42.8	8.4	10.0	1.9
	検出率 (%)	100	66.7	50	83.3	66.7	100	83.3
ND <	5	20	2	1	1	1	1	

濃口：濃口醤油 n=48, 淡口：淡口醤油 n=6

表9. 納豆中のアミン類含有量

		( $\mu\text{g/g}$ )						
		チラミン	ヒスタミン	フェニルアミン	プトリン	カダベリン	スペルミン	スペルミン
丸大豆 (n=33)	範囲	ND-8.4	ND	ND	3.3-12.1	ND-8.5	23.5-81.3	3.3-18.9
	平均値	7.4	ND	ND	7.0	4.4	56.1	10.3
	検出率 (%)	12.1	0	0	100	84.8	100	100
ひきわり (n=9)	範囲	ND-1150	ND	ND-18.1	9.4-24.1	ND-9.6	44.3-114	5.4-12.8
	平均値	9.5*	ND	ND*	16.2	7.0	75.2	9.4
	検出率 (%)	33.3	0	11.1	100	22.2	100	100
ND <	5	20	2.0	1	1	1	1	

\* 最高値を除いた平均値

丸大豆納豆とひきわり納豆ではひきわりの方が含有量が高めであったのは、形態が細かく発酵が速く進んだためとも思われたが、丸大豆納豆でも検出率 12.1%と少ないながら平均値で 7.4  $\mu\text{g/g}$  検出され、ひきわりの 1,150  $\mu\text{g/g}$  を除いた平均値 9.5  $\mu\text{g/g}$  と大差なかった。このことから高濃度の Tym が検出されたひきわり納豆は使用された納豆菌の種類の違い、すなわち Tym を多く産生する菌をたまたま使用した特異な例と考えられ、原料大豆の形態には無関係であると思われた。

しかし低濃度とはいえ Tym が検出されるものがあったことは、使用される納豆菌によっては多量の Tym が検出されることもあり得るため、さらに市販品における含有量及び産生菌について調査が必要であると考えられる。

8) 魚醤油 魚醤油とは魚介類を原料として通常食塩濃度 15~20%前後の高塩濃度下で 1~2 年間発酵し得られる液状食品をいい、イカの塩辛のようなペースト状のものは魚醤油という。中里らは市販のナンプラー、ニョクナムなど輸入品 11 種 41 検体、及びしょつつる、いしる、魚醤油など国産品 4 種 14 検体合わせて計 55 検体について、Tym, Him, Phm, Put, Cad, Spd, Spm 及び Tpm 8 種のアミンの含有量を調査した<sup>59)</sup>。

Him は輸入品ではほとんどすべての検体から ND~310  $\mu\text{g/g}$  検出され、その 75%は 100  $\mu\text{g/g}$  以上で最高 310  $\mu\text{g/g}$  を示すものがあった。国産では検出するものと、全く検出しないものがあり ND~380  $\mu\text{g/g}$  の範囲で検出した。Tym は輸入品ですべてから 11~920  $\mu\text{g/g}$ 、国産品ではしょつつるの 2 検体を除いて 12 検体すべてから検出し、その含有量は ND~1,700  $\mu\text{g/g}$  と幅が広く製品によって差が大きかった。また、比較的含有量の高かった Cad は輸入品で 21~1,000  $\mu\text{g/g}$ 、国産品で ND~3,300  $\mu\text{g/g}$ 、同じく Put はそれぞれ 4.3~630  $\mu\text{g/g}$ 、ND~1,600  $\mu\text{g/g}$  であった。

8 種のアミンのうち Him, Tym, Cad 及び Put の 4 者は検出しないものもあったが、検出されたこれらのアミン含有量は輸入、国産品全体を通して Spd, Spm, Phm, Tpm の含有量と比較して顕著に高かった。

原料の魚介類は輸入品ではイワシ類がほとんどで、国産品ではしょつつるは八タ八タ、その他イカ、サバ、イワシタイ、サケと様々であった。原料中の各アミン濃度は明らかではないが、含有量が高く、また含有幅の大きい Him, Tym, Cad, Put については発酵製造中に微生物の関与によって生成したものと推察された。味噌、醤油と違って麹菌を用いず原料も様々な上、製造場所、施設、気候、風土などの条件の違い、そこに存在する菌も異なることから、多種多様な菌がそれぞれ関与しアミンを産生したと思われる。

### 3. 食品におけるアミンの生成

1) 発酵食品中のアミン産生菌 これまで述べた食品を含め発酵食品中のアミン類の存在由来と成因を解明し、食品衛生上問題となるアミンを含め多種類のアミン類の含有量

表10. 各種菌によるヒスチジン及びチロシンの脱炭酸能

菌	生成アミン	
	ヒスタミン	チラミン
<i>Bacillus cereus</i>	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	
<i>Citrobacter freundii</i>	+	
<i>Clostridium aerofetidum</i>		+
<i>Clostridium perfringens</i>	+++	
<i>Clostridium sporogenes</i>		+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	
<i>Escherichia coli</i>	++	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	
<i>Hafnia alvei</i>	+++	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+++	
<i>Proteus mirabilis</i> *1		+
<i>Proteus morganii</i>	+++	
<i>Proteus vulgaris</i>	+	
<i>Pseudomonas reptilivora</i>	+	+
<i>Salmonella sp.</i>	+	
<i>Shigella</i>	+	
<i>Lactobacillus buchnerii</i>	+	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>		+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	++	
<i>Lactobacillus plantarum</i>		+
<i>Lactobacillus pentoaceticus</i>		+
<i>Leuconostoc cremoris</i>		+
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		+
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	+	
<i>Streptococcus cremoris</i> *2	+	+
<i>Streptococcus durans</i> *3	+	+
<i>Streptococcus faecalis</i> <sup>3</sup>	+	++
<i>Streptococcus faecium</i> <sup>3</sup>	+	+
<i>Streptococcus lactis</i> *3		+
<i>Streptococcus mitis</i>		+

+ : Positive

\*1: 現在 *Morganella* 属 に属する

\*2: 現在 *Lactococcus* 属 に属する

\*3: 現在 *Enterococcus* 属 に属する

を総合的に把握することは、健全な食生活を営む上で重要である。

食品から分離されるアミン産生菌では、特にチロシン、ヒスチジン脱炭酸酵素を持つ菌としていわゆる腐敗菌が多く知られ<sup>8,10,12)</sup>、また、食品の汚染菌の中にも脱炭酸酵素活性をもつものが知られている。表 10 に食品から分離された脱炭酸酵素活性をもつことが知られている菌を列挙した<sup>6,7,60)</sup>。

特に発酵食品の製造に関わる菌の中で Tym あるいは Him 産生能を持つ菌として、チーズから *Lactobacillus*, *Streptococcus*<sup>7,13)</sup>、ワイン及び Sauer kraut では *Pediococcus cerevisiae*<sup>7)</sup> が、また日本酒で *Leuconostoc mesenteroides*<sup>60)</sup> が、ヨーグルトでは *L. bulgaricus*<sup>61)</sup> などが分離され報告されている。また、Tym, Him 以外のアミンを産生する菌として *L. sake* がアグマチン、Put を、また、

*L.bulgaricus* にトリプトファン脱炭酸活性があることなど<sup>60,61)</sup>, いずれも発酵に関わる乳酸菌が報告されている。

乳酸菌以外では, 真菌の *Aspergillus oryzae* の中にエチルアミン, *iso*-ブチルアミン, *iso*-Am を産生するものが<sup>49)</sup>, 清酒酵母のある株が Cad, エタノールアミンを産生すること等, 真菌, 酵母によるアミン産生も報告されている<sup>16,50)</sup>。しかし, いずれも分離した菌の活性を調べたものがほとんどで, 食品中でのアミン産生の証明は行われていない。

魚醤油諸味中のアミン産生菌については, 佐藤らが Him 産生菌として *Pediococcus halophilus* を同定している<sup>64)</sup>。この菌は味噌, 醤油を始め広く発酵食品に見られ, あるいは製造の際故意に添加される。筆者は味噌の製造の際に添加される同菌を入手し産生能を調査したが Him を含め他のアミンの産生能は認められなかった。同菌については不明な点が多く, 佐藤らが述べるように整理が必要であろう。その他水産加工品から検出される耐塩, 好塩性の菌で Him 産生菌として *Acinetobacter*, *Photobacterium*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus* が知られている<sup>63-65)</sup>。

2) 味噌, 醤油中のアミン産生菌の検索 味噌に関しては, 高木<sup>66)</sup>らが味噌中の Tpm の生成について, Chin<sup>67)</sup>らが Tym の生成について報告しているのみで, 味噌中のアミンの存在とそれに関わる産生菌の証明はなされていない。また, 醤油に関してのアミン生成に関する報告はほとんどみあたらない。これは市販の醤油が火入れされていること, メーカーが限られており, 生の醤油が手に入りにくい等のためと思われる。

筆者は味噌及び醤油についてアミン類の由来を知るため, 実際に味噌, 醤油を醸造し味噌及び醤油熟成中のアミンの挙動を調べた<sup>68-70)</sup>。

まず味噌についてはその原料である大豆, 米麹について含有量を測ったところ Tym, Him 及び Phm は全く検出されなかった。常法に従って味噌を仕込み経時的にアミン類を測定したところ, 仕込み後 40~90 日の間で Tym が検出され, 発酵熟成中に生成することがわかった。また, Phm, Him は検出されなかったが, 実態調査の結果からも考え合わせると味噌中に存在するアミン類のうち Put, Cad, Spd, Spm は主として原料由来であり, Tym, Phm, Him は製造熟成中に微生物により産生されることが判明した。

また, 醤油については味噌同様に原料である大豆, 麦, 麹について含有量を測ったところやはり Tym, Him 及び Phm は全く検出されなかった。そこで醤油を仕込み, 経時的にアミン類を測定したところ, 仕込み後 20 日前後より Tym 及び Phm が検出され, 醤油においても発酵熟成中にこれらアミンが生成することがわかった。Him はこの実験からは検出されなかったが, 味噌同様これら 3 者のアミンは発酵熟成中に生成することが判明した。

さらに味噌, 醤油原料及びそれらのもろみからアミン産生菌を探索したところ, 味噌原料から Tym あるいは Him を産生する 2 種の菌を分離し, また, 醤油もろみより Tym を産生する菌を 2 種分離した。それぞれ菌の同定を行った

ところ味噌から分離した Tym 産生菌は *Enterococcus faecium* で, Him 産生菌は *Lactobacillus* 属の乳酸菌であり, また, 醤油もろみから分離した Tym 産生菌は味噌同様 *Enterococcus faecium* と同定された。

### 3) 味噌, 醤油における Tym 及び Him 生成のメカニズム

分離された各菌の種々の環境下における発育とアミン産生条件を検討した。その結果, 味噌及び醤油ともに, 熟成中これらの菌は他の微生物と共存しながら, 6~8%以下の塩分濃度で pH の条件のよい熟成初期の短期間のうちに生育し, それぞれが Tym あるいは Him を産生すると考えられた。また, 味噌からしばしば検出される *E.faecalis* も Tym を産生することが知られていることから, この菌も味噌中の Tym の存在に関与しているものと思われる。しかしながら実態調査における市販品の含有量と比べて, モデル実験で得られた検出量がいずれも低かった。このことは, 熟成中塩分が浸透しこれらの菌が生育できなくなる塩分濃度になった後も生育する耐塩性のある菌, 例えば *P.halophilus* のようなアミン産生菌が関与し Tym あるいは Him 等を産生するとも考えられる。これらの菌は共に味噌に限らず漬物など各種の発酵食品によくみられることから<sup>71-74)</sup>, それらの食品に存在するアミン類の生成に深く関わっているものと考えられる。

### 4. Tym 及び Him の摂取量

以上各種発酵食品からアミン類が検出されることを明らかにしてきたが, アミン類摂取による人体への影響が憂慮される。平成 14 年における国民一人 1 日当りの摂取量は全国平均でチーズ 2.3 g, 味噌 12.9 g, 醤油 18.7 g, ワイン等洋酒 19.6 g, ビール 59.2 g 及び納豆 6.9 g となっている<sup>75)</sup>。

Tym について, 仮に一度に Tym が 1,000 µg/g の濃度の食品を 1 日平均摂取量を食べたとすると, 味噌で 12.9 mg, 醤油で 18.7 mg の Tym をとることになり, MAOI 服用者では十分発症のレベルである 6 mg 以上に達する。しかし, これは高濃度のものを一度に食べた場合のことで実際には一日の間で分散して摂取することから, 少なくとも健康者において味噌, 醤油では問題にならないと考えられる。チーズや納豆では 1 日平均摂取量が味噌, 醤油より少ないとはいえ, 人によっては一度に食べる量は味噌, 醤油よりも多い, むしろこれらの方が注意を要する。

ワイン, 紹興酒及びビールではそれらのアミン含有量レベルが人体に影響を及ぼすか否かについては, アルコールを同時に摂取することから一概に論じられないが, Tym 及び Him の最高値が赤ワインでそれぞれ 9.51, 10 µg/ml であり, 輸入のビールでそれぞれ 56.8, 9.0 µg/g である。チーズや味噌, 醤油と比べていずれも低い値ではあるが, 酒類は飲酒量に個人差があるものの一度に摂取する量はチーズ等よりも多い。仮にワインをボトル一本(750 ml)飲んだとすると, Tym で 7.1 mg, Him で 7.5 mg を摂取することになる。また, ビールを 1 L 飲んだとすると Tym で最

高 56.8 mg (平均値換算で 4.5 mg), Him で 9.0 mg 摂取することになる。また, Tym 最高値として 1,000  $\mu$ g/g を含む納豆を 50 g 食べたとすると, 50 mg 摂取することになる。経口で 500 mg 摂取すると血圧上昇をきたすといわれていることから<sup>18)</sup>, これらの量は健康な人では問題にならないと思われるが, MAOI 等の医薬品服用患者には発症に十分である。一方 Him の毒性発現は 70 mg 以上といわれており<sup>13)</sup>, 摂取量は少ないが Him の毒性を高めるといわれている Put その他のアミンも存在することから, なんらかの影響があることも考えられる。また, アルコールとの共存も毒性発現に対して不明なことから今後検討の余地が残される。

#### おわりに

最近ポリアミンの生体における効果, すなわち人が生きて行くために必要な生理活性物質として, また Put, Spd, Spm は細胞の増殖因子として必須の成分として見直されている<sup>76)</sup>。これらの摂取は動脈硬化を抑制する働きもあるなど, 人の長寿に貢献しているかもしれない。実際味噌, 醤油のある成分は血圧上昇を抑制するなど機能性が見直されている<sup>28)</sup>。私たちは食品から様々な生理活性物質を摂っている。それらの微妙なバランスで健康を保っているともいえる。有害な物質は排除すべきだが, リスクを評価する時代でもある。むやみに怖がるのではなく科学的根拠のもとに食品の安全性を評価し, 安心して安全な食生活を送るべきである。これらのデータが発酵食品の安全性を評価する上で科学的裏付けに資することを願っている。

#### 文 献

- 1) 松本知子, 彼谷俊夫: 農化, **56**, 209-212, 1982.
- 2) Walter, H.J.P., Geuns, J.M.C.: *Plant Physiol.*, **83**, 232-234, 1987.
- 3) 吉田武美, 黒岩幸雄: 衛生化学, **32**, 57-69, 1986.
- 4) 五十嵐一衛: 薬学雑誌, **108**, 187-200, 1988.
- 5) 藤田啓介, 永津俊治, 新保 寛: 蛋白質核酸酵素, **26**, 1273-1288, 1981.
- 6) Askar, A., Treptow, H.: Biogene Amine in Lebensmitteln, Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart, 1986.
- 7) Rice, S.L., Eitenmiller, R.R., Koehler, P.E.: *J. Milk Food Technol.*, **39**, 353-358, 1976.
- 8) 辺野木正夫, 善養寺 浩: 新細菌性食中毒, 南山堂, 332-347, 1972.
- 9) 清水亘, 日引重幸: 日本水産学会誌, **21**, 365-367, 1955.
- 10) 宮木高明: 食衛誌, **3**, 214-220, 1962.
- 11) 山中英明, 天野慶之: 食品衛生研究, **34**, 277-288, 1984.
- 12) 三雲隆三郎, 嶋田幸治: 食品衛生の科学, 東京同文書院, 172-177, 1958.
- 13) Edwards, S.T., Sandine, W.E.: *J. Dairy Sci.*, **64**, 2431-2438, 1981.
- 14) Ingles, D.L., Back, J.F., Gallimore, D., et al.: *J. Sci. Food Agric.*, **36**, 402-406, 1985.
- 15) Stratton, J.E., Hutkins, R.W., Taylor, S.L.: *J. Food Prot.*, **54**, 460-470, 1991.
- 16) Blackwell, B., Mabbitt, L.A., Marley, E.: *J. Food Sci.*, **34**, 47-51, 1969.
- 17) Leading Articles: *The Lancet*, 945-946, 1965.
- 18) Wunderer, H., 江戸清人, 金谷節子監訳: 医薬品と飲食物の相互作用 71-75, 2002.
- 19) Blackwell, B., Mabbitt, L.A.: *The Lancet*, 945-946, 1965.
- 20) Isaac, P., Mitchell, B., Grahame-Smith, D.G.: *The Lancet*, 816, 1977.
- 21) Wright, S.P.: *The Lancet*, 284-285, 1978.
- 22) 高久史磨, 矢崎義雄 監修: 治療薬マニュアル 2004, 医学書院, 179, 251, 1248, 1417, 2004.
- 23) Hui, J.Y., Taylor, S.L.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **81**, 241-249, 1985.
- 24) Chu, C.H., Bjeldanes, L.F.: *J. Food Sci.*, **47**, 79-80, 88, 1982.
- 25) Higashimoto, M., Matano, K., Ohnishi, Y.: *Jpn. J. Cancer Res.*, Gann, **79**, 1284-1292, 1988.
- 26) Nagahara, A., Ohshita, K., Nasuno, S.: *Fd. Chem. Toxic.*, **24**, 13-15, 1986.
- 27) Ochiai, M., Wakabayashi, K., Nagao, M., et al.: *Jpn. J. Cancer Res.*, Gann, **75**, 1-3, 1984.
- 28) 大下克典: 日本醸造協会誌, **85**, 762-770, 1990.
- 29) Shibamoto, T.: *Fd. Chem. Toxic.*, **21**, 745-747, 1983.
- 30) Kawabata, T., Oshima, H., Ino, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 334-338, 1978.
- 31) Warthesen, J.J., Scanlan, R.A., Bills, D.D., et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 898-902, 1975.
- 32) Endo, H., Takahashi, K.: *Nature*, **245**, 325-326, 1973.
- 33) Sen, N.P., Seaman, S.W., Weber, D.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **73**, 325-327, 1990.
- 34) 輿水敏子, 高松和幸, 金子幹宏, 他: 衛生化学, **20**, 332-336, 1974.
- 35) 輿水敏子, 高松和幸, 金子幹宏, 他: 衛生化学, **21**, 1-2, 1975.
- 36) 輿水敏子, 高松和幸, 金子幹宏, 他: 衛生化学, **21**, 326-329, 1975.
- 37) 高松和幸, 高橋一成, 高森 茂, 他: 衛生化学, **22**, 316-318, 1976.
- 38) 竹葉和江, 村上文子, 松本昌雄, 他: 食衛誌, **31**, 137-143, 1990.
- 39) 松永明信, 清水隆作: 富山衛研年報, **6**, 75-77, 1983.
- 40) 松永明信, 山本 敦, 斎藤行雄, 他: 北陸公衛誌, **12**, 19-26, 1985.
- 41) 松永明信, 山本 敦, 関口久義, 他: 富山衛研年報, **7**, 62-69, 1984.

- 42) Ough, C.S., Daudt, C.E., Crowell, E.A.: *J. Agric. Food hem.*, **29**, 938-941, 1981.
- 43) Baucom, T.L., Tabacchi, M.H., Cottrell, T.H.E., *et al. J. Food Sci.*, **51**, 1376-1377, 1986.
- 44) 松永明信, 大戸幹也, 牧野正雄: 富山衛研年報, **9**, 154-157, 1986.
- 45) Ibe, A., Saito, K., Nakazato, M., *et al. : J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74**, 695-698, 1991.
- 46) Buteau, C., Duitschaever, C.L., Ashton, G. C. : *Am. J. Enol. Vitic.*, **35**, 228-236, 1984.
- 47) Ough, C.S., Daudt, C.E.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, 185-188, 1981.
- 48) 井部明広, 上村 尚, 田端節子, 他: 東京衛研年報, **46**, 102-107, 1995.
- 49) 小泉武夫, 角田潔和, 原 高教, 他: 発酵工学, **56**, 745-751, 1978.
- 50) 梅津雅裕: 発酵工学, **48**, 103-109, 1970.
- 51) 井部明広, 上村 尚, 田端節子, 他: 東京衛研年報, **47**, 90-94, 1996.
- 52) 松永明信, 山本 敦, 清水隆作: 富山衛研年報, **6**, 78-81, 1983.
- 53) 高木兵治, 藤山玲子, 長沢俊三: 栄養と食糧, **16**, 499-502, 1963.
- 54) 高木兵治, 藤山玲子, 長沢俊三: 栄養と食糧, **17**, 123-125, 1964.
- 55) 高木兵治, 岡本玲子: 食工誌, **23**, 119-124, 1976.
- 56) Chin K.-D.H., Koehler, P.E.: *J. Food Sci.*, **48**, 1826-828, 1983.
- 57) Lin, J.K., Horng, T.S., Chang, L.S.: *Tai-wan I Hsueh Hui Tsa Chih*, **81**, 1116-1125, 1982.
- 58) 井部明広, 田村行弘, 上村 尚, 他: 衛生化学, **37**, 379-386, 1991.
- 59) 中里光男, 小林千種, 山嶋裕季子, 他: 東京衛研年報, **53**, 95-100, 2002.
- 60) 梅津雅裕, 柴田 彩, 前田正敏: 発酵工学, **55**, 68-74, 1977.
- 61) Chander, H., Batish, V.K., Babu, S. *et al. : J. Food Sci.*, **54**, 940-942, 1989.
- 62) 佐藤常雄, 木村 凡, 藤井建夫: 食衛誌, **36**, 763-768, 1995.
- 63) 佐藤常雄, 溝井理子, 木村 凡, 他: 食衛誌, **37**, 173-178, 1996.
- 64) 八並一寿, 越後多嘉志: 日水誌, **57**, 1723-1728, 1991.
- 65) 八並一寿, 越後多嘉志: 日水誌, **58**, 515-520, 1992.
- 66) 高木兵治, 岡本玲子: 食工誌, **23**, 125-131, 1976.
- 67) Chin K.-D.H., Koehler, P.E.: *J. Food Prot.*, **49**, 423-427, 1986.
- 68) Ibe, A., Nishima, T., Kasai, N. : *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **38**, 181-187, 1992.
- 69) Ibe, A., Nishima, T., Kasai, N. : *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **38**, 403-409, 1992.
- 70) 井部明広, 田端節子, 貞升友紀, 他: 食衛誌, **44**, 220-226, 2003.
- 71) 微生物生態研究会編: 微生物の生態 4 「場の管理をめぐって」, 学会出版センター, 19-44, 1977.
- 72) 好井久雄, 金子安之, 山口和夫: 食品微生物学, 技報堂出版, 167-209, 1972.
- 73) 農林省食糧研究所: 発酵食品の微生物管理技術, 1967.
- 74) 森 治彦: 日本醸造協会誌, **86**, 194-199, 1991.
- 75) 厚生労働省編: 国民栄養の現状, 平成 14 年国民栄養調査結果, 平成 16 年 6 月, 92-97, 2004.
- 76) 早田邦康: 食の科学, **309**, 40-49, 2003.