

9451 食塩存在下における魚臭の発生抑制及び酸化酵素阻害に対する微生物の利用

助成研究者：石川 行弘 (鳥取大学 教育学部)

共同研究者：守本 京三 (広島県食品工業技術センター)

木村 靖夫 (鳥取大学 農学部)

1. 研究目的……イワシなどを加工して付加価値の高い製品をつくる時、鮮度低下につれて生臭い臭気を発生するが、脂質の自動酸化よりはリポキシゲナーゼ (LOX) などの酸化酵素作用によるところが大きい。従って、LOX活性を阻害することが緊要となる。鯉節菌は矯臭効果が高く、それは何によるのか、どのような条件で効果を示すのか等について検討し、鯉節菌の機能性を解明する。さらには、微量で有効な新規のLOX阻害剤を微生物起源に求めて探索し、微生物を利用した新しい食品加工技術の開発に資する。
2. 研究方法……鯉節菌 (*Eurotium herbariorum*) は食塩を添加した麦芽培地で静置培養した。臭気成分はパージ・トラップ法でTenax TA管に集め、GC/MS分析 (DB-Wax, 60m) した。LOX活性はリノール酸を基質とし酸素電極法によって測定した。

3. 研究結果

3. 1 鯉節菌によるイワシ臭の矯臭……イワシの鮮度低下にともなって生成する臭気成分をGC/MS分析すると、プロパナールや1-penten-3-olが特異的に増加した。脂質がLOX作用を受けて生成する特有の物質である。鯉節菌体とイワシミンチを混合すると、臭気成分の生成が顕著に抑制され (Fig.1),

過酸化物質はほとんど増加せず、不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸の比が変化しないことから、鯉節菌の代謝産物のLOX阻害活性を測定すると極めて強く、flavoglucin等が有効であった。また、菌体はアルデヒドを分解して相当する酸及びアルコールを生成した。高塩濃度下でも分解され、そのとき同じ塩濃度で培養した菌体を用いると効果が高かった。鯉節菌はLOX阻害とアルデヒド分解に関与していることが分かった。

3. 2 糸状菌の生産するLOX阻害剤……

Aspergillus terreus と同定した菌株の生産する1,3-dihydro-7-methyl-4,5,6-trihydroxy-isobenzofuran は強力な阻害剤であった。*Penicillium daleae* の生産する3種の誘導体の中、2-acetyl-3,4-dihydroxy-5-methoxy-phenyl acetic acid は阻害活性を示した。

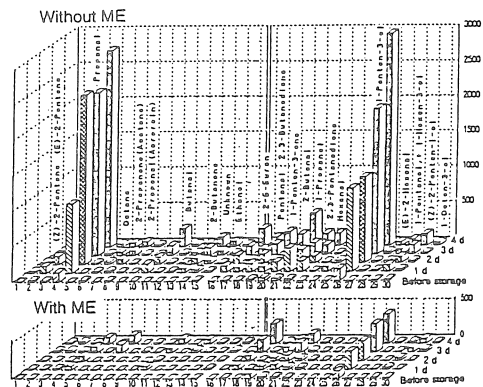


Fig.1 Changes in the Amounts of Volatiles from Sardine Mince with or without *Eurotium herbariorum*

9451 食塩存在下における魚臭の発生抑制及び酸化酵素阻害に対する微生物の利用

助成研究者：石川 行弘 (鳥取大学 教育学部)

共同研究者：守本 京三 (広島県食品工業技術センター)

木村 靖夫 (鳥取大学 農学部)

1. 研究目的

食品加工素材としてイワシなどの水産物を加工処理して付加価値の高い製品をつくる時、加工の途でないし鮮度低下につれて生臭い臭気を発生して風味が劣化するため、独特の魚臭の矯臭は必須要件である。酸素分子の関与する過酸化反応によるが、酸化の初期段階では自動酸化よりはむしろリポキシゲナーゼ (LOX) などの酸化酵素作用によるところが大きい¹⁾。LOXの制御がきかなくなって品質劣化が起こるため、その酵素活性を阻害することが緊要となる。その対策として、矯臭効果を有する食用微生物を有効利用する他に、新規LOX阻害剤の開発によって臭気成分の生成を阻止する、より閾値の高い化合物に変換させる、不揮発性にするなどが考えられる。

醭節製造菌は矯臭効果が高く、LOX阻害作用、アルデヒド分解能などを示す有用な菌と考えられる。本研究では醭節菌の矯臭効果は何によるのか、どのような条件で効果を発揮するのか等について検討し、その機能性を解明する。さらには、微量で有効な新規のLOX阻害剤を微生物起源に求めて探索し、微生物を利用した新しい食品加工技術の開発と多獲魚の有効利用に資する。

2. 研究方法

2. 1 イワシ試料

鮮度良好なマイワシを10℃の低温室でフィレーにし、氷水で洗浄後、水切りして-80℃に保存した。供試するときにはポリエチレン袋に入れたまま流水中で半解凍し、フードカッター及びミンサーでミンチにした。添加物はミンチにいれて10℃の冷蔵庫中で貯蔵試験した。LOXは新鮮なフィレーをミンチして調製した。

2. 2 野生株の分離

麦芽エキス (オリエンタル酵母製) 2.0%, ブドウ糖 2.0%, ポリペプトン 0.1% 及び寒天2.0% に硫酸ストレプトマイシン 100ppmを添加した培地を用い、土壌中より分離した。

2. 3 菌株の培養及び代謝産物の精製

基本培地は、麦芽エキス2.0%, ブドウ糖 3.0%, ポリペプトン 0.3% とし、24℃, 暗

所において、2週間静置培養した。麴菌 (*Eurotium herbariorum*, 純粋分離した菌株で (株) にんべんより提供されたNE-3菌を主に用いた) はさらに食塩を添加して培養し、培地上に形成した菌膜を供試した。代謝産物は培養ろ液の酢酸エチル抽出物および菌体のアセトン抽出物をヘキサン-酢酸エチル系溶媒による溶媒分別 (セライトにコート), ゲルクロマト (Sephadex LH-20; n-hexane-chloroform = 1:1 または n-hexane-chloroform-methanol = 3:1:1) 等によって精製した。

2. 4 臭気成分の分析

2. 4. 1 GC/MS

臭気成分の捕集はバージ・トラップ法 (P&T法) で行い、その装置をFig.-1 に示す。

試料を入れたガラス容器の中央に、濾紙 (8mm, id) を入れた小型ペトリ皿 (9mm, id × 6mm) を置き、ろ紙上に内部標準物質の水溶液 (3-methylbutanol または methyl butyrate) を添加後密封して、30℃ に10分間保持した。その後コックを開きモレキュラーシーブ 5A と Tenax TA を充填した不純物除去管を通した清浄な He ガス

(40 ml/min) を10分間バージして香気成分を捕集管にトラップした。続いて、水分を除去するために捕集管に清浄な He ガス (40 ml/min) を10分間通気した。捕集管は 3mm, id × 17cm の耐熱ガラス管に Tenax TA (60/80 mesh) 200mg を充填したものをを用いた。Tenax TA 管を GLC 及び GC/MS の注入口に直結し、200℃ で10分間加熱脱着してキャリアガスにより導入した。導入された捕集成分は、注入口側のキャピラリーカラムの一部を液体窒素で冷却してクライオフォーカシングを行った。

キャピラリー-GLC分析条件は次のようである。GC Instrument; Hewlett-Packard HP-5890 II; Detector; FID; Column; DB-Wax, 60 m × 0.25 mm, id.; Column temp.; 35℃ (kept for 10 min) → 220℃ (4℃/min)。GC/MSの分析には、ITD-800 (Finnigan MAT, Varian GC 3400)を用いた。

2. 4. 2 アルデヒド等の処理試験

アルデヒド等の水溶液20mlを50ml容三角フラスコに入れて密栓した。麴菌体を添加し

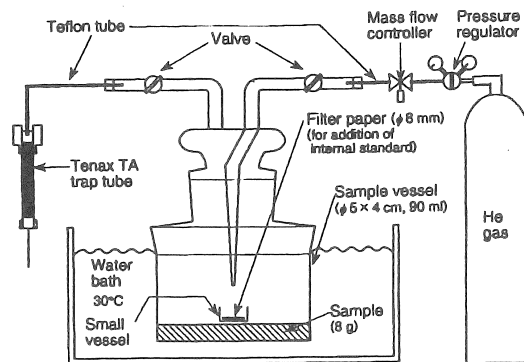


Fig.-1 Purge-and-Trap System for Collection of Volatile Compounds

て、24℃においてロータリーシェーカーで処理した。その一部をろ過 (Minisart SRP25, Sartorius) し、分析に供した。

2. 4. 3 HPLC およびGLC

HPLCによるアルデヒド分析は、反応溶液100 μ lに蛍光ラベル化剤 (1,3-cyclohexanedione 25mg, 酢酸 0.5ml, 酢酸アンモニウム 1gを水 5ml に溶解) 2mlを添加し、60℃で30分間反応させた²⁾。メタノール 2.9mlを添加した後、HPLC (LiChrosorb RP-18, ϕ 4x150mm, MeOH-H₂O=6:4, Flow rate=1ml/min, Detection Ex. 336nm, Em 440nm) を行った。また、バックドカラムによるアルデヒド、酸およびアルコールの分析条件は次のようである。Column; Gaskuropak 54, ϕ 2.6 mm x 2 m; Column temp.; 220℃; Injector temp.; 240℃; Detection; FID; Range 1; Att. 32; Carrier gas; N₂; Integrator Att.; 6; Instrument; Shimadzu GC-8A

2. 5 LOX阻害活性の測定 (酸素電極法)

2. 5. 1 基質

リノール酸 70.1mg に0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 50 ml を添加して最終濃度 50 mM とし、0.2% Tween 20 (W/V) を加えてソニケーターで乳化した。反応液組成は、リノール酸溶液 1.96ml, 阻害剤 (DMSO溶液) 20 μ l, 酵素液 20 μ l である。

2. 5. 2 LOXの調製

イワシミンチ30g にリン酸緩衝液 60mlを添加してホモジナイズした後、5,000 rpmで15分間遠心分離 (0℃) し、上澄液を得た。再び、沈殿にリン酸緩衝液 30ml を添加して同様に操作し、得られた2つの上澄液を合わせ再度 10,000rpmで15分間遠心分離 (0℃) して得られる上澄液を粗酵素液とした。

2. 5. 3 活性の測定

阻害剤を添加したLOX反応系の酸素消費量の多少から、LOX阻害活性を求めた。酸素センサーであるクラーク型複合電極 (YSI製, 5331型) を使用して、初発反応液の空気と水の接触面における飽和溶存酸素 (240 μ M) の減少量を測定した³⁾。

2. 6 固定化菌体の調製

5%食塩を含む麦芽培地で培養した鏝節菌3.5gを5%食塩を含む0.1Mリン酸緩衝液(pH 6) 50mlでよくすりつぶし、5%食塩を含む3%アルギン酸ナトリウム水溶液50mlと均一に混合した後、5%塩化カルシウム中に滴下した。そのまま約10分間放置し、固定化菌体を5%食塩水で洗浄した。

3. 研究結果及び考察

3. 1 イワシ臭気成分の分析

*Eurotium*属の菌株は、鰹節の風味改善に役立っているように異味、異臭を与えることなく矯臭効果も強い。本菌の有用性は何に基づくのか、どのような条件で臭気成分が効率よく除去されるのかを明らかにするため、以下の実験を行った。

3. 1. 1 臭気成分の捕集条件の検討

魚臭成分の分画・分取が可能で、定量性が優れているものとして、減圧蒸留とボラバックカラム濃縮を併用した方法（PQC法）及びP&T法について検討した。生イワシなどは、加温による試料の劣化や水蒸気の影響を受けることが考えられるため、捕集温度は低いことが望まれる。前者の方法では低中沸点の魚臭成分の回収率が極めて悪いが高沸点成分が多く捕集された。P&T法では捕集温度が比較的低温の30℃で行え、低沸点から中沸点までの多数の揮発性成分（魚臭成分）を簡便かつ定量的に捕集することができた。官能試験との比較で、以下の実験はP&T法で行った。

3. 1. 2 イワシの鮮度低下にともなう魚臭成分の生成機構

生マイワシの貯蔵試験を行い、鮮度低下にともなってC3～C7のアルデヒド類、C3～C5のケトン類及びC2～C8のアルコール類が生成した。特に、プロパナルや1-penten-3-olの生成量が多く、貯蔵期間に比例してその生成量が急激に増加した。乾燥品製造時にも、これらの成分の生成量が急激に増加し、また、乾燥温度は、乾燥品の品質に大きな影響を与えることが改めて確認された。

1-penten-3-olの特異的な生成から考えて、エイコサペンタエン酸に対して15-LOX及びヒドロペルオキシドリアーゼが臭気生成に大きく関与していることが推定された⁴⁾。イワシの表皮近辺には強力なLOXの存在が知られて、部分精製酵素について基質特異性などが報告されている¹⁾。このことから、イワシやその加工品の品質保持のためには、まず魚体中のLOX活性を阻害して初期の脂質酸化を抑制することが有効な手段であると考えられる。

3. 1. 3 生イワシに対する鰹節菌の魚臭抑制効果

鰹節菌は、flavoglaucinなどの抗酸化性物質を生産することからLOX活性阻害作用が期待できる⁵⁾。イワシミンチに乾燥菌体を1%添加して10℃で貯蔵した後の香気成分量を比較した結果をFig.-2に示す。

鰹節菌添加区において、プロパナル、1-penten-3-olなどの生成が抑制され、官能評価でも魚臭が弱くなった。4日間貯蔵しても官能的には魚臭は認められなかった。

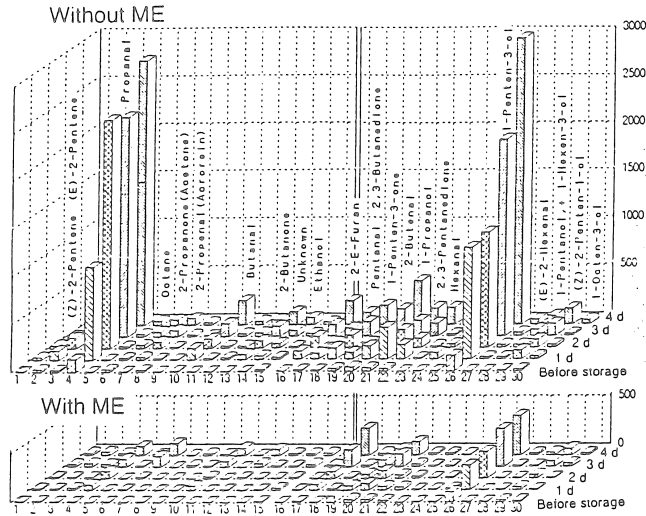


Fig.-2 Changes in the Amounts of Volatiles from Sardine Mince with or without *Eurotium herbariorum*

この時の醗菌添加試料と無添加試料の脂質酸化の比較を Fig.-3に示す。醗菌の添加により脂質酸化が顕著に抑制され、高度不飽和脂肪酸 (EPA+DHA) / 飽和脂肪酸の比率もほとんど変化しなかった。

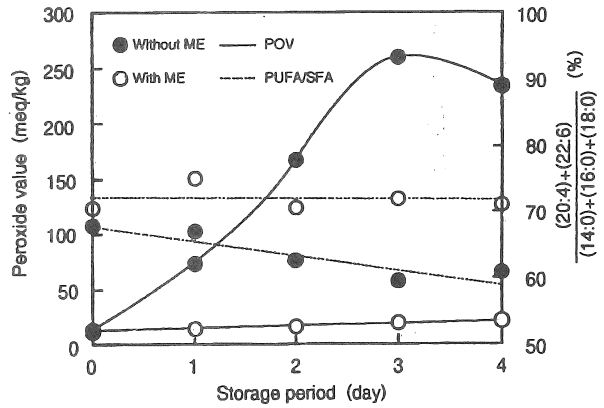


Fig.-3 Changes in Peroxide Values and the Ratio of PUFA to SFA in Sardine Mince

3. 1. 4 代謝物のLOX阻害作用

醗菌の生産する6種の代謝産物を単離、精製し、それらのLOX阻害作用について検討したところ、auroglaucinが最も強い活性を示した。主成分で抗酸化剤として強い活性を示すflavoglaucinの阻害活性をFig.-4に示す。

3. 1. 5 プロパナールの分解

プロパナールの2.5 mM 水溶液に醗菌(5%食塩存在下で培養) 0.5gを添加し、24℃において処理した。各時間における物質量をGLCで測定した結果をFig.-5に示す。

プロパナールは急速に分解され、プロパノールとプロピオン酸が生成した。ブタナールの場合も、ほぼ同様であった。アルコールと酸は醗菌で分解され難く、しかもアルデヒドは全く生成しなかった。

イワシの場合も、醗菌による処理によって臭気成分であるアルデヒドは分解され、生臭さが目立多くなると思われる。

醗菌自身は臭気成分のアルデヒド類を分解して、いき値の低い酸やアルコールに変換するとともに、その代謝物のLOX活性阻害作用によってアルデヒド類の生成抑制にも寄与していると考えられる。

一方、プロパナールの処理濃度を高めて、5mM及び10mM濃度で同様に処理したとき、40時間後におけるプロパナールの残存量は、それぞれ21%と80%であった。

また、生成した酸とアルコールを加えた総量は、86%、100%であ

り、負荷がかかったときの分解力が著しく低下することが分かった。しかし、食塩が存在しない培地で培養した醗菌を用いたとき、プロパナール残存量は5% (5mM, 総量 59%)、66% (10mM, 86%) になった。食塩存在下でプロパナールを処理するときには、処理する食塩濃度と同じ食塩濃度で培養した菌体を用いると分解度がよくなることが分かった。その1例 (醗菌, 5%食塩存在下で培養; プロパナール濃度, 10mM; 処理液中の食塩濃度,

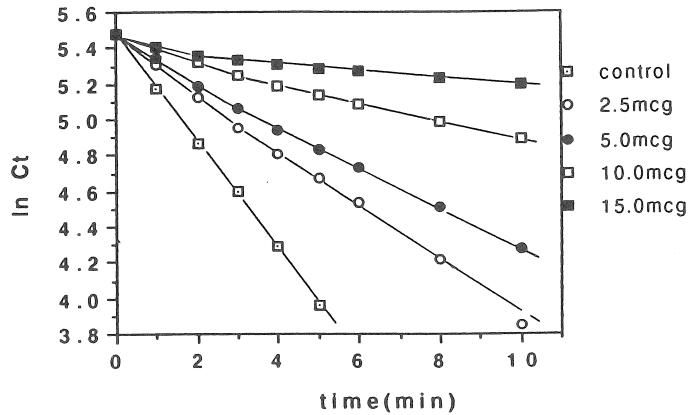


Fig.-4 Plot of Oxygen Concentration vs. Time During the Oxidation of Linoleic Acid by Sardine Lipoxygenase with Flavoglucain

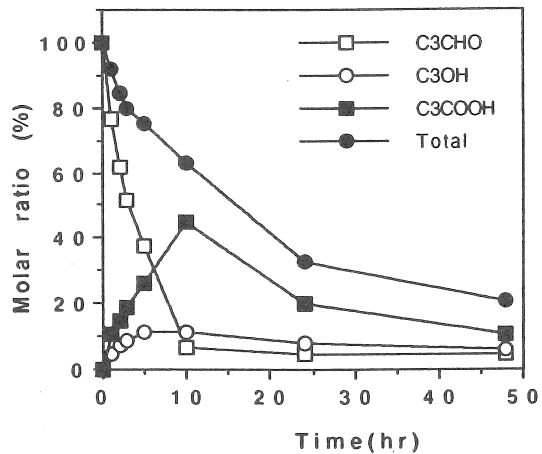


Fig.-5 Decomposition of Propanal by *Eurotium herbariorum*

0, 5, 10%) を Fig.-6 に示す。食塩が麴菌の生理作用と密接な関係にあると思われ、さらに検討する必要がある。

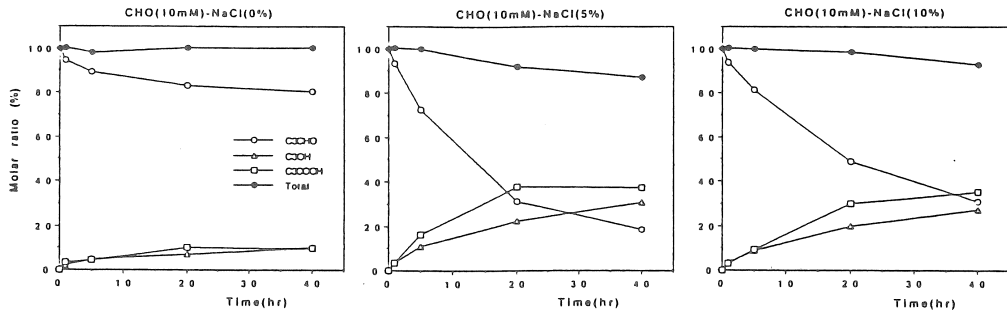


Fig.-6 Effects of the Concentration of Salt on Decomposition of Propanal by *Eurotium herbariorum*

処理液のpHの影響についても検討したところ、微酸性 (pH5.5~6) でプロパナールがよく分解され、微アルカリ (pH 8) ではかなり低下した。アルデヒド分解に関与する酵素類の至適pHまたは他の原因によるかについても検討したい。

3. 1. 6 固定化菌体によるアルデヒド分解

麴菌体をアルギン酸で固定化するため、種々の条件について検討し、pH6に調整したビーズが最も強度が強かった。資化させるプロパナールを含む溶液もpH6に調整した。調製直後のビーズを用い、プロパナールの分解度をHPLCで追跡すると、2日目でも約50%であったが、ビーズを培養培地で前処理 (前培養) した後に用いると、ほとんど分解することが分かった。固定化菌体を用いて魚臭成分を含む溶液の処理が可能になるであろう。

3. 2 糸状菌の生産するLOX阻害剤

*Eurotium*属菌株の代謝産物はLOX阻害活性を示すことが分かった。ここでは野生株の生産するLOX阻害剤のスクリーニングを行い、2株の生産する有効成分を同定した。現在、他の菌株の有効成分について検討中である。

3. 2. 1 NC-3菌の同定

NC-3菌を顕微鏡観察した結果は、典型的な *Aspergillus*属であることを示し、特徴は次のようである。Colonies on malt extract agar, potato dextrose agar, and Czapek Dox agar are attaining diameters of 45-50 mm, 60-65 mm, and 45-50 mm, respectively; typically velvety with no color on all agars; colony reverse colorless; Conidial heads long, columnar; conidiophores, smooth, colorless; vesicles hemispherical, domelike; sterigmata in two series; conidia globose, smooth; globose to ovate hyaline cells

produced on the vegetative mycelium.

これらの結果から、本菌は *Aspergillus terreus* であることが分かった⁶⁾。

3. 2. 2 NC-3菌の生産するLOX阻害剤

本菌の培養ろ液から得られた有効成分 (NC3B) の性質は次のようである。 Anal. Found: C, 58.10; H, 5.91. Calcd. for C₉H₁₀O₄: C, 59.33; H, 5.53 %. MS: 182 (M⁺). NMR dH (CDCl₃/DMSO-d₆): 7.92 (1H, bs), 7.38 (1H, bs), 5.00 (2H,t), 4.93 (2H, t), 3.58 (1H, bs), 2.00 (3H, s). NMR dC (CDCl₃/DMSO-d₆): 143.6, 137.3, 131.6, 129.1, 115.9, 108.5, 72.9, 72.0, 11.9.

これらの結果から、NC3Bは1,3-dihydro-7-methyl-4,5,6-trihydroxy-isobenzofuranで、コンピュータサーチから新規物質であった (Fig.-7)。

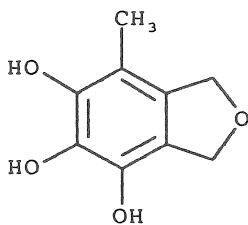


Fig.-7 Structure of NC3B Isolated from *Aspergillus terreus*

3. 2. 3 NC3Bの阻害活性

NC3Bの濃度を変化させて阻害効果を検討した結果をFig.-8に示す。4 μgの添加量で十分な阻害作用を示し、極めて強い阻害剤であることが分かった。

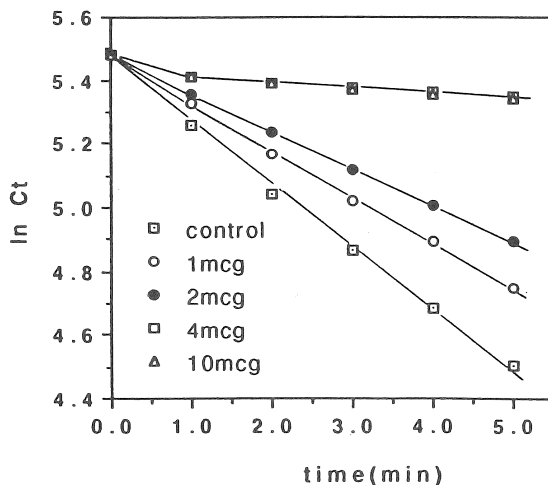


Fig.-8 Plot of Oxygen Concentration vs. Time During the Oxidation of Linoleic Acid by Sardine Lipoxigenase with a Metabolite from *Aspergillus terreus*

3. 2. 4 NC44-1菌の同定

NC44-1菌を顕微鏡観察した結果は、典型的な *Penicillium* 属であることを示し、特徴は次のようである。Colonies on malt extract agar, potato dextrose agar, and Czapek Dox agar are attaining diameters of 65-70 mm, 50-55 mm, and 40-45 mm, respectively; typically velvety with no color on Czapek Dox agar; colony reverse colorless, with gray on malt extract agar; colony reverse in orange shades, and with gray-green on potato dextrose agar; colony reverse in red shades; penicilli strongly divaricate; conidiophores with walls smooth; conidia globose to subglobose with roughness typically arranged in spiral bands.

これらの結果から、本菌は *Penicillium daleae* Zaleski と同定された⁷⁾。

3. 2. 5 NC44-1菌の生産するLOX阻害剤

培養ろ液抽出物をTLC (benzene-ethyl formate-formic acid (5:4:1)) かけると、塩化第二鉄溶性の3物質 (Rf 0.50 (NC441B1), 0.33 (NC441B2), 0.27 (NC441B3)) を認めた。主成分のNC441B2のNMRデータは次のようである。NMR dH (CDCl₃/DMSO-d₆): 8.87 (1H, s), 8.50 (1H, bs), 6.33 (1H, s), 3.86 (3H, s), 3.58 (2H, s), 2.52 (3H, s). NMR dC (CDCl₃/DMSO-d₆): 203.0, 172.7, 148.8, 145.6, 132.4, 124.1, 121.6, 106.0, 55.5, 38.8, 31.6.

種々の機器分析の結果と合わせて、NC441B2は 2-acetyl-3,4-dihydroxy-5-methoxy-phenyl acetic acid と同定した⁸⁾。

NC441B3 (NMR dH (Acetone-d₆): 6.40 (1H, s), 3.72 (2H, s), 2.58 (3H, s). NMR dC (Acetone-d₆): 204.2, 172.5, 149.8, 148.8, 132.2, 127.4, 119.1, 112.0, 40.2, 31.9) 及び微量に生産された NC441B1 (NMR dH (CDCl₃): 13.19 (1H, s), 6.33 (1H, s), 5.48 (1H, s), 3.94 (3H, s), 2.64 (3H, s), 2.57 (3H, s)) についても、それぞれ 2-acetyl-3,4,5-trihydroxy phenyl acetic acid⁹⁾ 及び 2,3-diacetyl 4,5-dihydroxy-6-methoxy-benzene (新規物質) と同定した。これらの物質の構造式を Fig.-9 に示す。

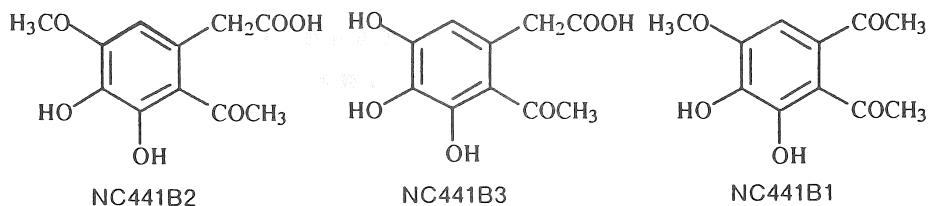


Fig.-9 Structures of Metabolites from *Penicillium daleae*

3. 2. 6 NC441Bの阻害活性

NC441B2及びB3のLOX阻害活性は、NC3Bに比較して著しく弱く、特に、B3の活性はほとんど認められなかった (Fig.-10)。これらの物質はフェノール性水酸基を有して還元性を示すが、B3はアセチル基と分子内キレートした水酸基の他の2個の水酸基が立体障害となって抗酸化能が劣っており、LOX阻害活性と抗酸化活性は関連性が大きいようである。B1の活性は構造から類推してB2と同じ程度と思われる。

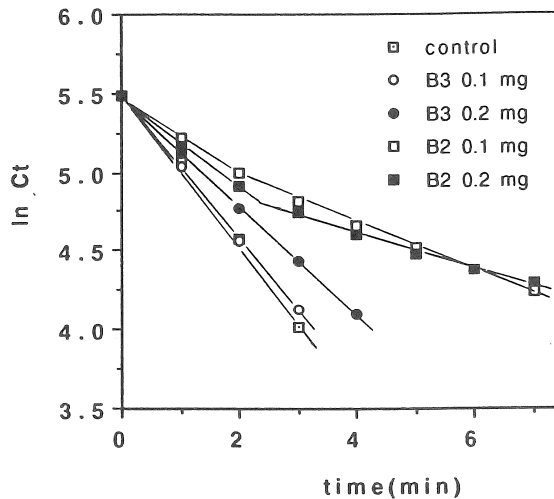


Fig.-10 Inhibitory Effects of Metabolites from *Penicillium daleae* on Sardine Lipoxygenase

上記の研究の結果、鯉節菌の矯臭効果とその代謝産物や酵素作用などによる臭気成分であるアルデヒド類の生成抑制と分解が密接に関連していることが明らかになった。イワシなどの多獲魚を食品素材として利用するとき、臭気の単なるマスキングでは脂質の酸化と長期間の発臭を防止することは困難であるため、脂質酸化の連鎖反応を抑え、酸化物を分解して酸化による発臭のし難い食品素材を開発する日途がたった。

4. 今後の課題

鯉節菌の生理作用を解明するため、アルデヒド類分解活性は菌体のどの部分に関与しているのか、アルデヒドデヒドロゲナーゼやアルコールデヒドロゲナーゼの酵素活性が認められるかについて確認する必要がある。酵母の生産するこれらの酵素は食塩によって阻害されるが¹⁰⁾、鯉節菌は高濃度の食塩存在下においても有効に働くことに決定的な差異があると推測される。また、他の食品微生物が同じような機能を有していれば、それらの利用法について検討する。

微生物の代謝物にもLOX阻害物質が存在すること (その活性と抗酸化性とは必ずしも一致するわけではない) から、大豆などの植物性食品の臭気発生やエイコサノイドの生成に関与するLOX阻害剤のスクリーニングを行って、新規有用物質の開発に資する。

5. 文献等

- 1) S. Mohri, S-Y. Cho, Y. Endo, and K. Fujimoto, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 573 (1992).
- 2) 鈴木義仁, 分析化学, **34**, 314 (1985).
- 3) 福沢健治, 寺尾純二, 脂質過酸化物実験法, 広川書店, 1990, pp. 72~73.
- 4) D. B. Josephson and R. C. Lindsay, * *Biogenesis of Aromas* *, ACS Symposium Series, 317, 1986, pp. 201~219.
- 5) Y. Ishikawa, K. Morimoto, and T. Hamasaki, *J. Food Sci.*, **50**, 1742 (1985).
- 6) K. B. Raper and D. I. Fennell, * *The Genus Aspergillus* *, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1965, pp. 567~574.
- 7) C. Ramirez, * *Manual Atlas of the Penicillia* *, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982, pp. 238~244.
- 8) Y. Kimura, M. Nishibe, H. Nakajima, and T. Hamasaki, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1137 (1991).
- 9) A. Kamal, T. Begum, and A. A. Qureshi, *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, **14**, 86 (1971). (CA. 75: 126960e).
- 10) 徳永俊夫, 水産ねり製品技術研究会誌, 11, 97 (1985).

Means of Retarding Development of Fishy Flavor and Inhibiting Lipoyxygenase Activity by Microorganisms in the Presence of Salt

Yukihiro Ishikawa, Kyozo Morimoto* , and Yasuo Kimura* *

College of Education, Tottori University, * Hiroshima Prefectural Food

Technological Research Center, **Faculty of Agriculture, Tottori University

Summary

Our overall goal of this study was to optimally control the leading function of *Eurotium herbariorum* and to search for new types of lipoyxygenase (LOX) inhibitors, thus contributing development of the technology for food processing using microorganisms.

1. Prevention of fishy flavor by *E. herbariorum* --- Out of volatile flavor compounds in sardine trapped by headspace sampling, the amounts of propanal and 1-penten-3-ol were specifically increased as a function of storage time. As this was due to the action of LOX on lipid like EPA, it was found that LOX must be inactivated to avoid fishy flavor generation during storage of sardine. Addition of powdered mycerial mats of the fungus to sardine mince was with increasing desirable flavor characteristics as well as remarkable inhibition of volatile compounds formation and lipid oxidation. LOX activity was significantly retarded by the fungus metabolites like flavoglaucin. The fungus also decomposed aldehydes to produce the corresponding acids and alcohols even in higher concentrations of salt.

2. LOX inhibitors from microorganisms --- A fungus, *Aspergillus terreus*, produced 1,3-dihydro-7-methyl-4,5,6-trihydroxy-isobenzofuran as a strong inhibitor. Out of three kinds of derivatives isolated from *Penicillium daleae*, 2-acetyl-3,4-dihydroxy-5-methoxy-phenyl acetic acid had an inhibitory activity.