

低利用性水産資源の有効活用技術の開発に関する研究

原田, 恭行

<https://doi.org/10.15017/1932019>

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (農学), 論文博士
バージョン :
権利関係 :



低利用性水産資源の有効活用技術の
開発に関する研究

原田 恭行

2018

目次

第1章 緒論	1
第2章 小アジを有効利用した小アジ味噌の開発	13
第1節 緒言	13
第2節 実験材料および方法	14
第1項 原材料	14
第2項 小アジ味噌の製造方法および試験区	15
第3項 生菌数測定	15
第4項 化学成分分析	15
第5項 小アジ味噌中の異物数の計数	17
第6項 官能検査	17
第7項 データ処理および統計解析	17
第3節 結果および考察	18
第1項 小アジ味噌熟成中の pH および生菌数の変化	18
第2項 小アジ味噌熟成中の水溶性カルシウム量の変化	20
第3項 小アジ味噌熟成中の有機酸組成	23
第4項 小アジ味噌熟成中の遊離アミノ酸組成	25
第5項 小アジ味噌熟成中のヒスタミン量の変化	27
第6項 小アジ味噌熟成中の諸性状	29
第4節 小括	33
第3章 小アジ味噌からのヒスタミン生成菌単離・同定とヒスタミン生成に及ぼす有機酸の影響	34
第1節 緒言	34

第2節	実験材料および方法	35
第1項	ヒスタミン生成菌の分離	35
第2項	ヒスタミン生成菌の同定	35
第3項	ヒスタミン生成菌の培養培地	37
第4項	ヒスタミン生成菌の培養方法	37
第5項	ヒスタミン生成菌の増殖、pH、ヒスタミン量の測定	38
第6項	ヒスタミン生成菌の増殖とヒスタミンの蓄積を抑制する 有機酸の最少増殖阻止濃度の定義	38
第7項	有機酸の測定	38
第8項	ヒスタミン生成菌による糖の資化性評価	38
第3節	結果および考察	39
第1項	ヒスタミン生成菌の分離と同定	39
第2項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する酢酸の影響	43
第3項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する リンゴ酸の影響	45
第4項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する クエン酸の影響	47
第5項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する乳酸の影響	49
第6項	TYH1株による有機酸の資化性評価	51
第7項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する グルコースの影響	53
第8項	TYH1株による糖の資化性評価	56
第9項	TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する 大豆油添加による影響	57
第10項	ヒスタミン生成菌の増殖とヒスタミンの蓄積を抑制する 有機酸の最少増殖阻止濃度	61

第4節	小括	63
第4章	クエン酸添加によるシイラ味噌熟成中のヒスタミン生成抑制挙動の解明と呈味性への影響	64
第1節	緒言	64
第2節	実験材料および方法	65
第1項	原材料	65
第2項	シイラ味噌の製造方法および試験区	65
第3項	生菌数測定	66
第4項	化学成分分析	66
第5項	呈味性評価	66
第6項	試料のサンプリング方法	67
第7項	データ処理および統計解析	67
第3節	結果および考察	68
第1項	シイラ味噌熟成中のpHの変化	68
第2項	シイラ味噌熟成中の生菌数の変化	70
第3項	シイラ味噌熟成中のヒスタミン量の変化	76
第4項	シイラ味噌中の有機酸組成	79
第5項	シイラ味噌中の遊離アミノ酸組成	81
第6項	味覚センサーによるシイラ味噌の呈味性評価	83
第4節	小括	86
第5章	低温乾燥法による小アジ塩干品の高品質化	87
第1節	緒言	87
第2節	実験材料および方法	88
第1項	乾燥機	88

第2項	浸漬試料、塩干品および焙焼品の調製方法	88
第3項	物理化学的性状分析と官能評価	89
第4項	データ処理および統計解析	91
第3節	結果および考察	91
第1項	乾燥機庫内温度と相対湿度および魚肉内部温度の変化	91
第2項	小アジ乾燥中の魚肉の水分および塩分の変化	96
第3項	冷風乾燥した小アジ干物の呈味成分の変化	98
第4項	冷風および熱風乾燥した小アジ干物の焙焼による 呈味成分の変化	105
第5項	冷風乾燥した小アジ干物の焙焼後の官能評価	109
第4節	小括	111
第6章	総括	112
	謝辞	117
	参考文献	118

第1章 緒論

日本の漁業・養殖業生産量は、1984（昭和59）年をピーク（1,282万トン）にマイワシの不漁等により1995（平成7）年頃にかけて急激に減少した。その後も緩やかな減少傾向が続き、2015（平成27）年にはピーク時の半分以下である469万トンまで減少している（Fig. 1-1）¹⁾。

世界の海洋における漁業生産量は1990年以降横ばい状態であるが、今後の漁業資源の枯渇による生産量の減少が危惧されている（Fig. 1-2）²⁾。海洋漁業資源の減少を防ぐには、乱獲を防ぎ、資源管理を徹底させるとともに、低・未利用資源を活用して既存の資源に対する負担を低減することが有効な方策と考えられる³⁾。

近年、遠洋・沖合海域における漁獲規制に伴い沿岸漁業の重要性が再認識されている。日本沿岸域における基幹漁業は定置網漁業である。定置網漁業は、来遊魚群の入網を待つ受動的な漁法であるため漁業資源に対する負担が小さい。しかし、その反面、魚種や大きさの異なる多様な生物が混在して漁獲される^{4,5)}。このため、商品価値の低い規格外サイズの魚や魚種などが混獲され、海上投機される場合もある^{4,5)}。これら低・未利用水産資源の有効利用は、漁業資源の枯渇による生産量の減少に伴い、漁業資源の効率的利用の面から益々重要性を増している。低・未利用水産資源の利用方法の検討については各地で進められており、魚醤油の開発^{6,7)}はその一例であり、既に実用化の域に達している^{7,8)}。魚醤油の生産量は増加傾向にあり、魚介類を利用した発酵調味料を含め、1万トン以上と推定されている⁹⁾。ところが、魚醤油を生産すると、諸味の絞り粕である醤油粕が大量に発生し、その処理が新たな課題となっている。21世紀に入り、漁業資源に限らず資源の持続可能な有効利用が世界的に求められており、資源の厳格な管理のみならず、廃棄物の発生を抑制する取り組みは極めて重要である¹⁰⁾。

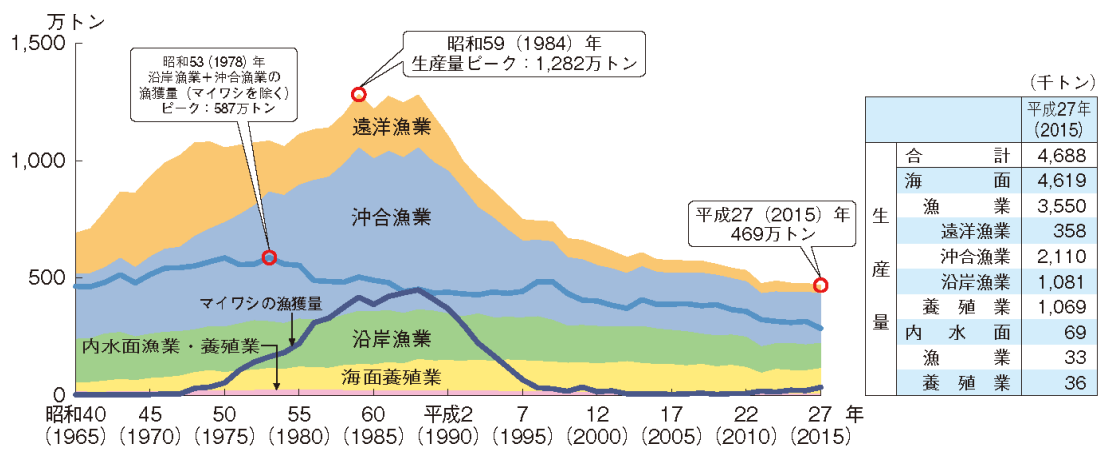


Fig. 1-1. 漁業・養殖業の国内生産量の推移¹⁾

出典：農林水産省「平成28年度水産白書」

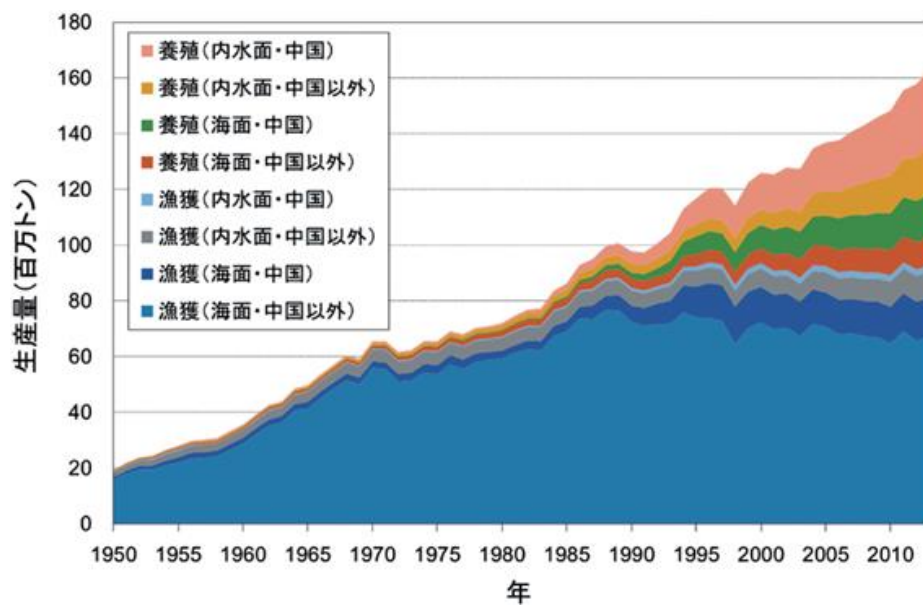


Fig. 1-2. 世界の漁業生産量の推移²⁾

出典：FAO 「Fisheries and Aquaculture Department statistics」

2015年5月のG7エルマウ・サミット（ドイツ）では、首脳宣言で「天然資源の保護と効率的な利用は、持続可能な開発のために不可欠である」とされ、2008（平成20）年にG7洞爺湖サミットで取りまとめられた「神戸3R行動計画」等に基づき、日本を含めたG7各国は、引き続き、資源生産性を向上させるための野心的な行動を取ることとされた。また、2015年9月に国連が取りまとめた持続可能な開発のための2030アジェンダ（Fig. 1-3）には、持続可能な開発目標（SDGs）のターゲットとして資源効率の改善についても盛り込まれ、2030年までに、「世界の消費と生産における資源効率を漸進的に改善させ、経済成長と環境悪化の分断を図る」、「天然資源の持続可能な管理及び効率的な利用を達成する」、そして「廃棄物の発生を大幅に削減する」等が掲げられた¹⁴⁾。今後は、日本もこの目標に向けた取組みを進めていく必要がある。

日本国内においては、2000（平成12）年は「循環型社会元年」と呼ばれた。経済成長の結果、当時深刻化した不法投棄の頻発、最終処分場の逼迫とそれによるさらなる不法投棄の誘発といった悪循環を断つため、この年に循環型社会形成推進基本法（平成12年法律第110号）等を制定した。この法律の制定により、天然資源の消費の抑制及びできる限りの環境負荷の低減を図る循環型社会の形成を目指して、廃棄物の処理に優先順位を設け、3R（リデュース・リユース・リサイクル）と熱回収、適正処分を推進することとなった。その後、同法に基づき循環型社会形成推進基本計画（平成15年3月閣議決定）が策定され、国や地方公共団体等によって、循環型社会の形成に向けた様々な施策が行われた。その結果、循環利用率〔(循環利用量／(循環利用量+天然資源等投入量))〕は、2000（平成12）年の10.0%から2013（平成25）年には16.1%に増大した。その一方で、第三次循環基本計画（平成25年5月閣議決定）では、循環型社会形成推進基本法における優先順位がリサイクルよりも高いリデュース及びリユースの取組の遅れが指摘された。2016（平成28）年2月に行われた第三次循環基本計画の直近の点検では、資源生産性（GDP／天然資源等投入量）は2000（平成12）年度から長期的には向上しているが、同基本計画における2020（平成32）年度目標の達成は非常に困難な状況であることが明らかとなった。資源生産性の向上には、国内総生産

(GDP)の増大、または、経済社会に投入される天然資源等投入量の削減が必要である。実質的には、物が廃棄・処分される段階の取組だけでなく、その前の物の生産・流通・消費といった段階で、資源の消費量を削減することが重要である。循環型社会の本来の目的である天然資源の消費抑制と環境負荷の低減を図るには、今後リデュース・リユースの推進や、品質の劣化を伴わず、同じものに再生できるリサイクル(水平リサイクル)等の、質が高くかつ効率的なリサイクルを進めていくことが必要となる¹¹⁾。

SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS
17 GOALS TO TRANSFORM OUR WORLD



Fig. 1-3. 国連「持続可能な開発のための 2030 アジェンダ」¹¹⁾

世界の食用魚介類の1人当たり消費量(供給量)は、1961(昭和36)年の9.0 kgから2011(平成23)年には18.9 kgとなり、50年間で2倍以上に増加している(Fig. 1-4)¹⁾。この背景として、国際連合食糧農業機関(FAO)は、所得の増加や、水産物流通システムの整備等が複合的に影響した結果であるとしている。また、経済協力開発機構(OECD)およびFAOの分析によれば、生活水準の向上、魚に対する健康食としての認識の深まり、流通システムの改善等を背景として、アジア地域を中心として今後も食用魚介類の1人当たり消費量は伸びるとみられており、2024(平成36)年には21.5 kgに達すると予測されている¹²⁾。

世界の食料需給の状況は、人口の増加や、開発途上国の経済発展による所得向上に伴う畜産物等の需要増加に加え、バイオ燃料の需要増加、異常気象の頻発、水資源の制約による生産量の減少などの様々な要因によって、中長期的に逼迫が懸念される¹³⁾。世界の穀物需要の状況は、人口の増加や開発途上国の経済発展に伴う食生活の変化、特に肉類需要の増加や、畜産物生産に必要な飼料穀物の増加が見込まれ、1999(平成11)年から2001(平成13)年平均の18億トンから2024(平成36)年には27億トンまで50%増加すると見込まれている(Fig. 1-5)。世界の穀物生産量も需要に合わせて増加しており、今後も生産性の向上や農業投資の増加により一定の増加が期待されている。しかしながら、地球温暖化、水資源の制約、土壌劣化等が顕在化しつつあり、中長期的には需給の逼迫も懸念される¹³⁾。世界の地域別の穀物および大豆の生産量の推移は、ほぼ全ての地域で増加が予測されている(Fig. 1-6)。地域別にみると、アジアおよびアフリカでは、今後も人口増加による消費量の増加により生産量が不足し、輸入量の増加が予測されている。特に大豆については、アジアにおける消費量が生産量の4倍以上になると予測されている¹³⁾。

このように食料をめぐる現状を踏まえると、日本の食料供給は、輸入に大きく依存しているため、海外の影響を極めて受けやすい。味噌・醤油等の原料である大豆の大部分は、輸入原料に頼っている。このため、将来、味噌・醤油等の主原料の大豆が不足する可能性がある。

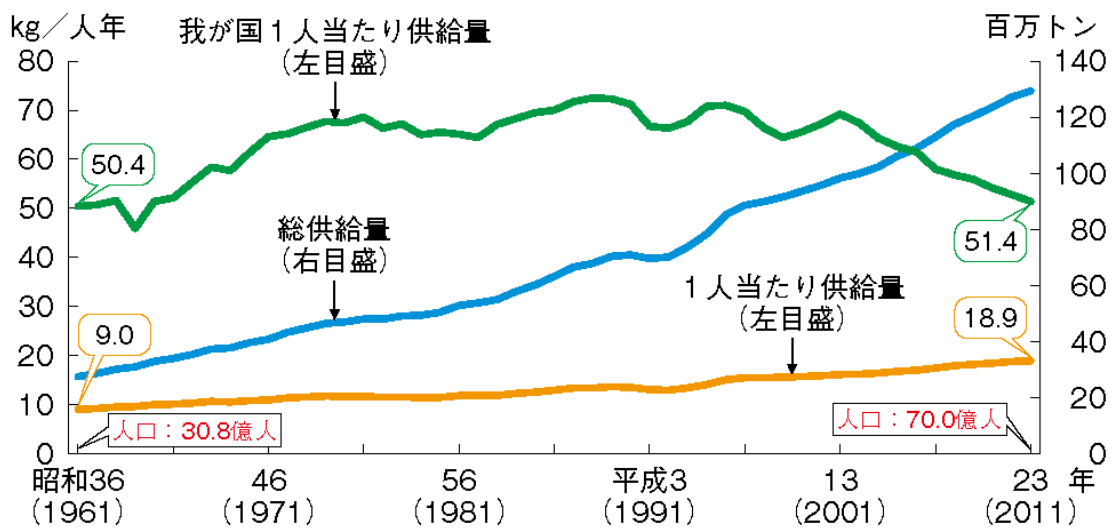


Fig. 1-4. 世界の食用魚介類供給量の推移¹⁾

出典：FAO「Food Balance Sheets」（日本以外の国）、国際連合「World Population Prospects」、農林水産省「食料需給表」（日本）

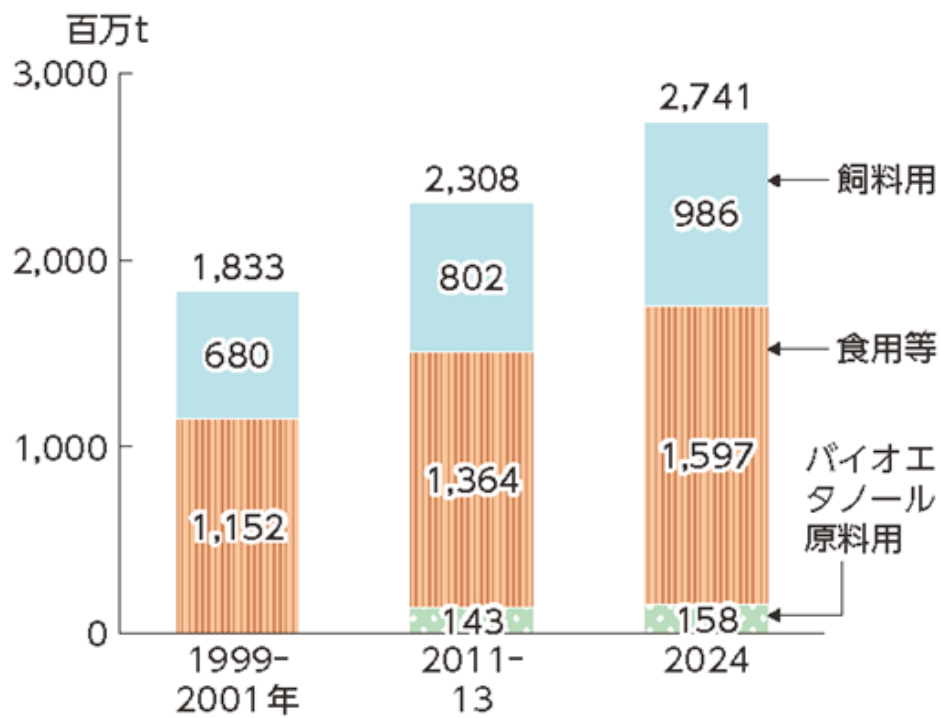


Fig. 1-5. 世界全体の穀物需給の見通し¹³⁾

出典：農林水産政策研究所「2024年における世界の食料需給見通しー世界食料需給モデルによる予測結果ー」

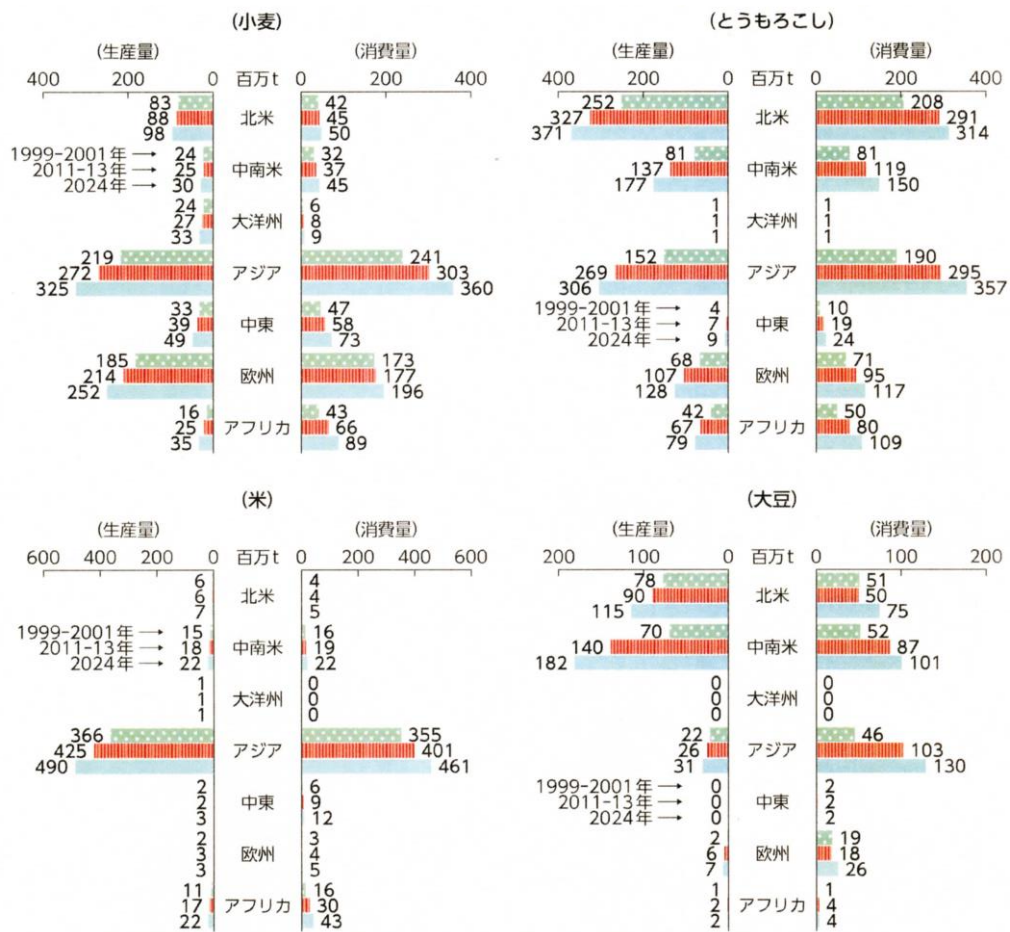


Fig. 1-6. 世界の穀物および大豆の生産量、消費量の推移と見通し¹³⁾

出典：農林水産政策研究所「2024年における世界の食料需給見通し—世界食料需給モデルによる予測結果—」

そこで本研究では、まず、日本沿岸海域の基幹漁業である定置網漁業において混獲される低利用水産資源のひとつである小アジを大豆（たんぱく源）の代替として有効利用し、かつ廃棄物の発生を抑制した魚味噌の醸造を試みている（第2章）。魚醤油や魚味噌などの水産発酵食品は、その原料である魚類に遊離ヒスチジンが多く含まれるため、熟成過程において遊離ヒスチジンがヒスタミン生成菌により脱炭酸されてヒスタミンを生成し、多量に魚味噌に蓄積される場合がある^{14,17)}。ヒスタミンは、アレルギー様食中毒の原因物質であり、現在 CODEX の魚醤油の規格基準は、製品中のヒスタミン濃度を 400 mg/L 以下と規定^{17,18)}している。日本では規制値は設定されていないが、設定に向けた検討が重ねられており、食の安全性を高めるためにヒスタミンの蓄積を抑制する方法の開発が望まれている¹⁷⁾。このため、魚味噌熟成中のヒスタミン蓄積抑制技術についても検討を行った（第3章）。

第2章では、廃棄物のゼロエミッション化¹⁹⁾を図るため、低利用水産資源（規格外の小アジ）のすべてを利用した魚味噌の醸造方法を検討した。第3章では第2章で骨や鱗等の軟化処理に用いた有機酸の抗菌作用によるヒスタミン生成菌の制御について検討した。第4章では、有機酸による魚味噌熟成中のヒスタミン生成抑制効果について製造現場レベルで魚味噌を試醸し、その検証を試みた。さらに有機酸の添加が魚味噌の呈味性に及ぼす影響を呈味成分と官能評価から検証し、その要因を考察した。

有限な水産資源の枯渇を防ぐには、これまでのような大量生産・大量廃棄の行われた旧パラダイムから離脱して、有限な地球システムの中で持続可能な開発を行う新しいパラダイムに移行する必要がある²⁰⁾。つまり、干物（最も古い水産加工品の一つ）を例に挙げると、画一的な規格サイズの干物だけを大量生産せずに、規格外サイズの原料を有効活用して水産資源に対する負荷を低減し、廃棄物（売れ残り）が出ない生産体制への移行を目指す必要がある。定置網に混獲される小アジは、規格外サイズのため商品価値が著しく低下するが、鮮度管理を適切に行えば、その品質（鮮度等）は良好に保たれる。そこで、第5章では、小アジのサイズ特性を活かし、低温・短時間加工による高品質塩干品の製造技術の検討とその品質について検証した。

以上の研究により、利用効率の低い水産資源（規格外サイズのアジ等）を有効利用した高品質魚味噌醸造法を確立し、有機酸（クエン酸）の添加によって魚体全体の利用と品質向上を達成できることを明示することができた。有機酸によるヒスタミン生成抑制作用については魚醤など他の水産発酵調味料への応用も期待される。さらに、規格外水産物の加工品として塩干品製造についても検討を加え、規格外サイズ（小サイズ）の特性を活かした低温・短時間乾燥によって規格サイズ品よりも高品質となることを明らかにした。本研究成果は、水産資源の有効活用とゼロエミッション化のための新たな食品加工法の基盤となるものである。

第2章 小アジを有効利用した小アジ味噌の開発

第1節 緒言

醤油・味噌の起源は、紀元前17世紀の中国（殷代）で造られた「醬（ひしお）」と考えられている。最初の醬は、肉や魚を原料に麴と食塩を加えて醸造したもの（肉醬・魚醬）で、麴の発見後に造られたと考えられている。その後、農耕文明が発展して大豆を用いた醬が造られ、醤油へと変遷していったと考えられている²¹⁾。醤油や味噌が、日本に伝来した時期については諸説あるが不明である。記録が残る最古の書物は701年の大宝律令であり、大豆を原料とした醬のほかに、味噌を指すと考えられる「未醬」の記載がある²¹⁾。いずれにせよ、味噌の起源は中国の醬から変遷した未醬（未熟の醬）であると考えられている²¹⁾。

魚味噌は、魚介類を原料として味噌と同様に麴と食塩を加えて造られる味噌様の発酵調味料²²⁾である。魚味噌の研究開発は各地で進められており²³⁻²⁵⁾、北海道や九州などではすでに商品として流通している。魚味噌は、生産量が少なく、知名度も低い、「醬」を起源とする味噌の歴史を顧みると、ある意味「先祖返り」とも言える古くて新しい発酵調味料である。

川崎ら⁷⁾はマルソウダガツオ、ブナザケ等の低・未利用水産資源を利用して日本人の嗜好に合った風味を持つ魚醤油の開発を行った。風味の改良に醤油麴を用い、最適な醤油麴の添加量を明らかにしている。この研究成果により経済性にも優れた魚醤油が商品として流通している⁸⁾。ところが、魚醤油を生産すると魚醤油諸味（もろみ）の絞り粕（魚醤油粕）が副産物として同時に発生することが新たな課題となっている。醤油醸造において副生する搾り粕（醤油粕）の一部は、燃料、肥料や家畜用飼料として利用される場合がある²⁶⁾。また、醤油粕には大豆由来のイソフラボン類（ゲニステイン、ダイゼイン）などの機能性成分を多く含むため、機能性素材としての研究も進められている²⁷⁾。しかしながら、醤油粕や魚醤油粕の大部分は産業廃棄物として処分されているのが現状である。

そこで、本章では魚体のすべてを原料として利用した廃棄物の生じない魚味噌の開発を試みた。魚味噌は魚醤油と類似した原料と製法で製造される発酵調味料であるが、魚醤油と異なり、魚醤油諸味（もろみ）を搾らずに、もろみ自体を利用する調味料である。

魚体全体を魚味噌の原料として利用すると、硬い骨等が残り、問題となる²³⁾。しかし、骨などには、カルシウム化合物が豊富に含まれることから、適切に軟化処理し、魚体全体を可食可能とすれば、栄養学的にも優れた製品となる。骨を軟化・可食化するには、加熱処理による方法²⁸⁾、カテキン処理による方法²⁹⁾、酢酸処理による方法³⁰⁾などが報告されている。また、多田ら³¹⁾は廃鶏の有効利用を図るため、骨付きのもも肉を塩酸溶液に浸漬処理することにより脱骨せずに骨部を軟化し、肉とともに可食化させる方法について考案し、実用段階に至っている。

これらの背景から、本章では富山県において年間を通して定置網漁業で混獲され、用途の少ない小アジの魚体全体を原料として有効活用した魚味噌（以下、小アジ味噌と略）の開発を試みた。小アジの可食困難な骨や鱗等の部位は、有機酸を用いて軟化を試みた。有機酸のうちクエン酸は、小魚からのカルシウムの可溶化に効果的である^{32,33)}と既に報告されていることから、本研究ではクエン酸を用いることとした。また、試醸した小アジ味噌は成分分析と官能検査を行い、クエン酸処理が小アジ味噌の品質に及ぼす影響についても検討を行った。

第2節 実験材料および方法

第1項 原材料

供試魚は、富山県氷見市沖の富山湾に敷設された定置網に混獲された小型のマアジ (*Trachurus japonicus*) であり、漁獲後-25℃で凍結保存した個体を供試時に常温にて解凍して用いた。麴は、*Aspergillus sojae* で製麴された米麴（秋田今野商店、秋田）を用いた。

第2項 小アジ味噌の製造方法および試験区

(1) 魚肉のクエン酸処理

小型のマアジ（平均尾叉長 17 cm）魚体を 3~4 等分に細断後、チョッパー（プレート口径 3 mm）を用いてミンチにした。このミンチ 2 kg に対して、600 mL の 10% (w/v) クエン酸溶液を加えてよく混合し〔クエン酸としての終濃度 2.3% (w/w)〕、4℃で 72 時間保持した。なお、対照は同量のミンチに 600 mL の水道水を加えたものとした。

(2) 仕込みと熟成

クエン酸処理したミンチ 2 kg に対し、食塩 350 g（終濃度 9.3%）、米麴 800 g（終濃度 21%）をそれぞれ加えてよく混合して仕込んだものをクエン酸処理区〔クエン酸としての終濃度 1.6% (w/w)〕とした。クエン酸処理しないミンチを同様に混合して仕込んだものを対照区とした。これらをふた付きのプラスチック容器に詰め、表面をポリ塩化ビニリデンフィルム（旭化成工業、東京）で覆い、30℃で熟成させた。

第3項 生菌数測定

一般生菌数は、標準寒天培地（日水製薬、東京）を用い、平板塗抹法³⁴⁾により、37℃で 2 日間培養後、コロニー数を計数して求めた。真菌数は、ポテトデキストロース寒天培地（日水製薬、東京）にクロラムフェニコールを 100 mg/L の濃度で添加した平板を用い、30℃で 5 日間培養後、コロニー数を計数して求めた。

第4項 化学成分分析

(1) pH

小アジ味噌約 10 g を精秤し、4 倍量の脱イオン水を加え、よく攪拌した後 pH メータ（M-12、堀場製作所、京都）で測定した。

(2) カルシウム量

カルシウム量は、原子吸光法³⁵⁾により求めた。すなわち、小アジ味噌約 1 g を精

秤し、これを 550°C で直接灰化後、残留物を 1% HCl にて溶解した。この溶液に干渉抑制剤として、塩化ストロンチウムを 3,000 mg/L となるよう添加後、1% HCl で定容して試料溶液とした。この試料溶液を原子吸光度計 (AA6500、島津製作所、京都) により波長 422.7 nm の吸光度を測定してカルシウム量を測定した。

(3) 水溶性カルシウム

小アジ味噌約 2 g を精秤し、10 倍量の熱水 (約 90°C) を加えて 1 分間攪拌後、ろ紙 (5A、90 mm、アドバンテック東洋、東京) でろ過し、ろ液を試料液とした。この試料液を 550°C で直接灰化し、第 4 項(2)と同様にカルシウム量を測定した。

(4) 遊離アミノ酸組成

遊離アミノ酸の抽出は、鈴木らの還流抽出法³⁶⁾に基づき行った。すなわち小アジ味噌約 2 g を三角フラスコに採取、精秤し、75%エタノール 25 mL を加えて攪拌棒で攪拌した後、3 回還流抽出 (80°C で 20 分間) した。これを 3000 rpm、10 分間遠心分離後、上清を減圧乾固した。固形分を 0.02 mol/L HCl で溶解・定容した後、メンブランフィルター (DISMIC 25HP045AN、アドバンテック東洋、東京) を用いてろ過し、アミノ酸分析用試料溶液とした。この試料溶液をアミノ酸自動分析計 (L8500A、日立製作所、東京) により遊離アミノ酸を分析した。

(5) 有機酸組成

小アジ味噌約 2 g を遠沈管に採取、精秤し、10 倍量の蒸留水を加えて振とう器 (SA-31、ヤマト科学、東京) を用いて攪拌した後、ろ紙 (5A、70 mm、アドバンテック東洋、東京) でろ過・定容した。このろ液を、高速液体クロマトグラフ (HPLC、LC10AD システム、島津製作所、京都) を用いて有機酸を分析した。分離条件は、カラム : Shima-pack SCR-101H、SCR-102H (島津製作所、京都) 2 本直列接続、移動相 : 5 mmol/L *p*-トルエンスルホン酸水溶液、流速 : 0.8 mL/min、温度 : 40°C であり、検出は電気伝導度検出器 (CDD-6A、島津製作所、京都) を用いて行った。

(6) ヒスタミン量

小アジ味噌 1 g を遠沈管に精秤し、0.1 mmol/L エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)

二ナトリウム溶液 (pH 8.0) 24 mL を加えて振とう器 (SA-31、ヤマト科学、東京) を用いて攪拌した後、沸騰水中で 20 分間加熱した。放冷後、ろ紙 (5A、70 mm、アドバンテック東洋、東京) でろ過し、ろ液をヒスタミン測定キット (チェックカラーヒスタミン、キッコーマン、千葉) で発色させ、分光光度計 (UV-2200、島津製作所、京都) を用いて波長 470 nm の吸光度を測定して定量した。

第 5 項 小アジ味噌中の異物数の計数

小アジ味噌試料 2 g を精秤し、脱イオン水で 10 倍希釈して、ろ紙 (5A、110 mm、アドバンテック東洋、東京) を用いて吸引ろ過した。ろ過残渣のうち、形状が骨または鱗様であり、指で押しても壊れない残渣を異物とし、その数を計数した。計数試験は 1 名あたり 2 回、異なる 3 名で行い、計 6 回の結果を平均して異物数とした。

第 6 項 官能検査

官能検査試料は、小アジ味噌を熱水に溶いた味噌汁とした。小アジ味噌 100% では明らかに好まれないと判断し、市販の米味噌に小アジ味噌を添加して試料とした。官能検査試料の配合は、以下のように調製した。すなわち、市販の米味噌のみ (以下、対照区と略) と小アジ味噌を 10% (w/w) 添加した市販の米味噌 (以下、小アジ味噌 10% 添加区と略) を、それぞれ塩分が 1% となるように熱水に溶いた。これらについて、2 点比較法³⁷⁾により官能検査を行った。検査項目は、「香り」、「うま味」、「酸味」、「塩味」、「後味」および「総合評価」とし、パネルが好ましいと感じた試料を選択することにより、その差を比較した。パネルは、当センター食品研究所研究員 15 名 (35~62 才) とした。

第 7 項 データ処理および統計解析

成分分析値は、試験区間の差を比較検討するため、一元配置の分散分析 (ANOVA) を行った。試験区間の有意差は、Tukey の多重比較検定により求めた。また、2 群間の

有意差は Student's t-test にて行った。結果は、平均値 ± SD で示した。

第3節 結果および考察

第1項 小アジ味噌熟成中の pH および生菌数の変化

小アジ味噌熟成中の pH および生菌数の経時変化を Fig. 2-1 に示した。クエン酸処理区では、熟成開始時の pH は 4.7 であり、熟成中の pH 値の変動は少なく、pH 4.7~4.9 の範囲で推移し、100 日目では pH 4.7 であった。一方、対照区では熟成開始時は pH 6.4 であり、熟成 30 日目までは急激に低下して pH 5.5 となり、その後 100 日目まで徐々に低下し、100 日目では pH 5.0 となった。熟成開始時の一般生菌数は、クエン酸処理区 2.5×10^4 cfu/g、対照区 1.4×10^4 cfu/g で大差はなかった。クエン酸処理区では熟成中に顕著な増減は認められず、100 日間での最大値は 8.0×10^4 cfu/g であった。一方、対照区では熟成 10 日目には開始時の約 1,000 倍に増加し、その後急激に減少し、熟成 100 日目にはクエン酸処理区とほぼ同数となった。熟成開始時の真菌数は、クエン酸処理区 1.8×10^5 cfu/g、対照区 2.5×10^5 cfu/g であり、クエン酸処理区では熟成 10~20 日目までに約 1/10 に減少し、その後 100 日目まで一定であった。対照区では、熟成 10 日目には開始時の約 20 倍まで増加した後、急激に減少し、熟成 100 日目にはクエン酸処理区とほぼ同数となった。これらの結果から、クエン酸の添加により、生菌数の増殖が抑制されたと考えられた。

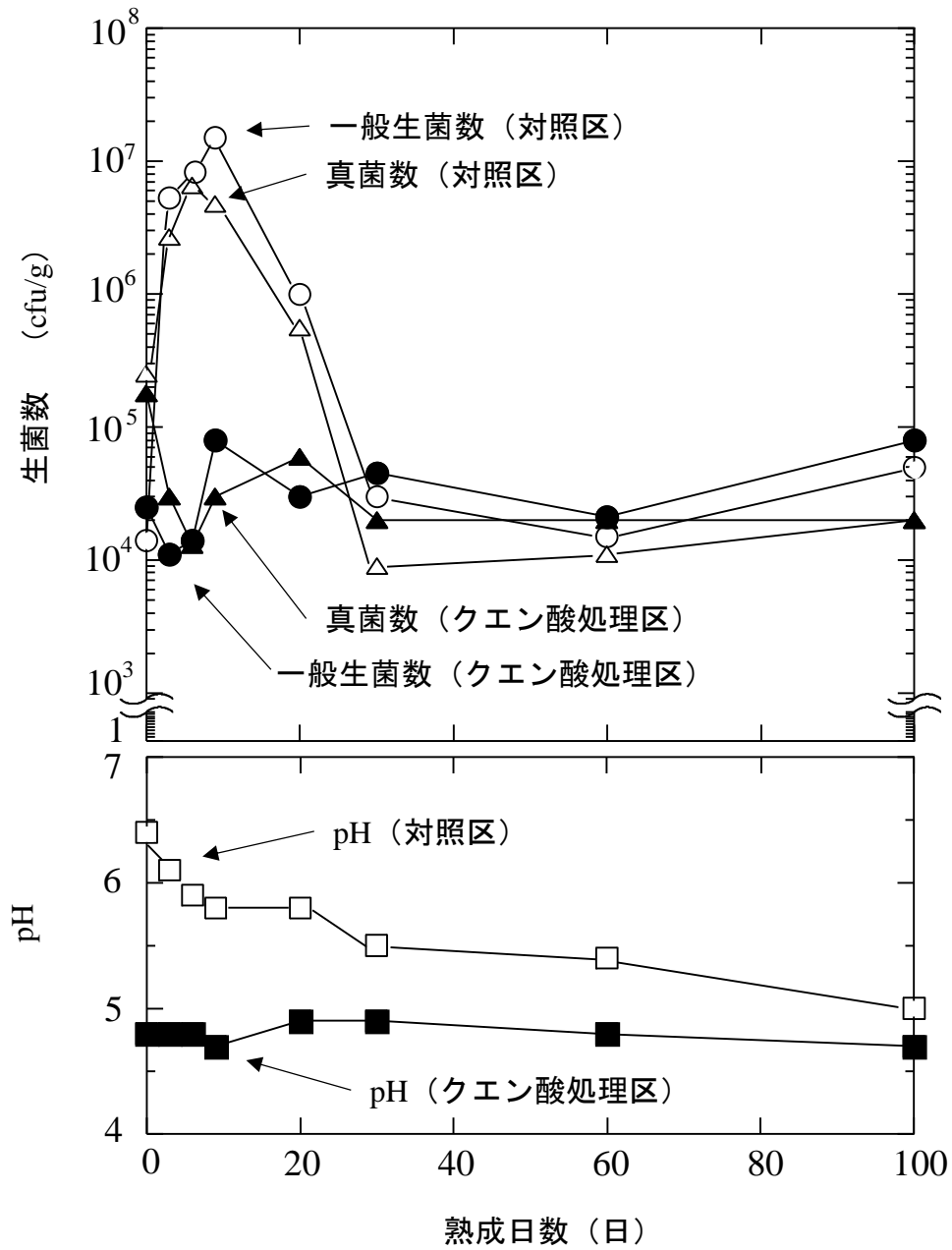


Fig. 2-1. 小アジ味噌熟成中の生菌数と pH の変化
 (n = 3、平均値 ± SD)

第2項 小アジ味噌熟成中の水溶性カルシウム量の変化

小アジ味噌熟成中の水溶性カルシウム量の経時変化を Fig. 2-2 に示した。クエン酸処理区では、熟成開始時の水溶性カルシウムは 203 mg/100 g であり、対照区の 17 mg/100 g と比べて 10 倍以上であった。クエン酸処理区では熟成 20 日目までは水溶性カルシウムは急激に増加して約 320 mg/100 g に達し、その後 100 日目まで緩やかに減少した。対照区では、熟成開始時はほとんど水溶性カルシウムが認められなかったが、熟成中に緩やかに増加した。熟成 100 日目の水溶性カルシウム量は、クエン酸処理区では 300 mg/100 g、対照区では 129 mg/100 g であった。仕込み開始時の総カルシウム量は、クエン酸処理区、対照区とも 410 mg/100 g であり、この値で水溶性カルシウムを除いて百分率表示した値をカルシウムの可溶化率とすれば、クエン酸処理区は 73%、対照区で 31% となり、クエン酸処理区では総カルシウム量の 70% 以上が水溶性であると考えられた (Fig. 2-3)。クエン酸処理区では、対照区に比べ熟成開始時に水溶性カルシウムが顕著に多かったが、魚骨などの主成分であるカルシウム化合物 (第二リン酸カルシウム、水酸化第三リン酸カルシウム等) が、クエン酸により溶出したためと推定された。また、クエン酸処理区において熟成 20 日目までは水溶性カルシウムが上昇したことから、本研究で試みたクエン酸処理 [クエン酸終濃度 2.3% (w/w)、4°C、72 時間浸漬] では、水溶性カルシウムの溶出に 20 日程度を要することが示唆された。その後、水溶性カルシウムが減少した原因については、水溶性カルシウムが新たな沈殿を形成したことなどが考えられる。対照区においても水溶性カルシウムが増加したが、これは対照区の有機酸が熟成開始時から熟成 100 日目までに有意に ($p < 0.01$) 増加したことから (第3項 小アジ味噌熟成中の有機酸組成を参照)、クエン酸処理区と同様の要因と考えられた。生体におけるカルシウムの吸収には、カルシウムの溶解性が重要な決定因子の一つである³⁸⁾ ことから、本研究で試醸した小アジの魚体全体を利用した小アジ味噌は、生体への吸収効率に優れた水溶性カルシウムを多く含む可能性がある。また、小アジ味噌は魚介内在プロテアーゼの働きにより、魚肉タンパク質が自己消化・分解された発酵調味料であることから、ペプチド等の機能性成分³⁹⁻⁴¹⁾ を多く含む可能性が示唆される。

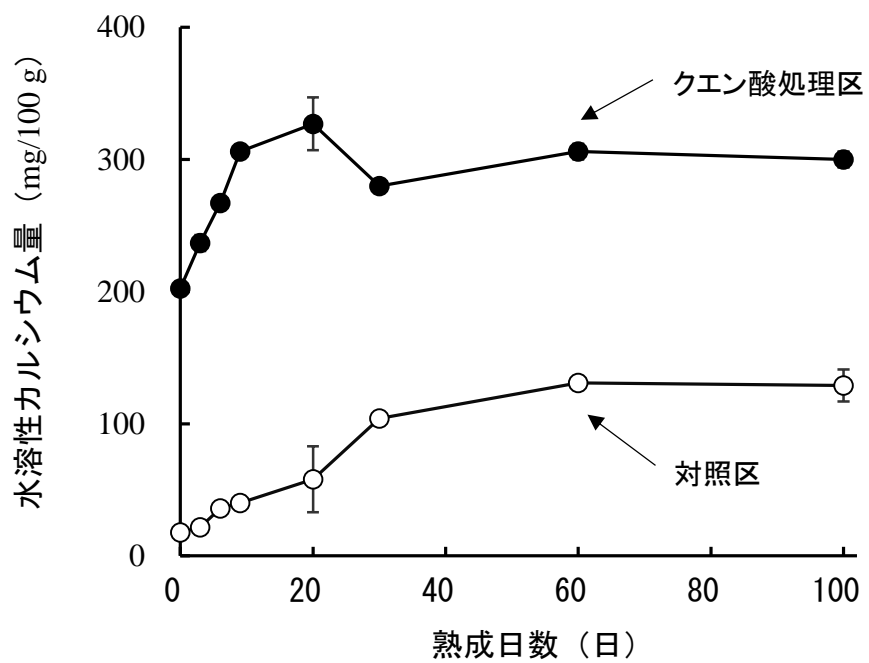


Fig. 2-2. 小アジ味噌熟成中の水溶性カルシウム量の変化
 データは平均値 \pm SD (n=3) にて表記した。

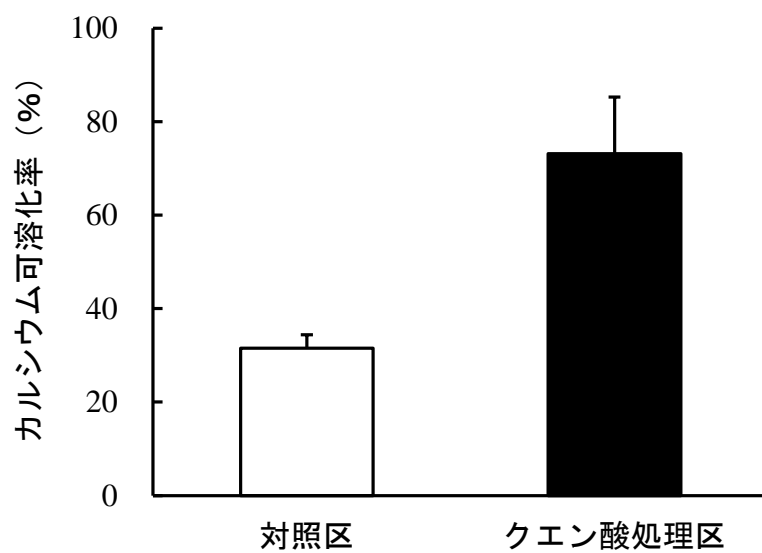


Fig. 2-3. 小アジ味噌熟成中のカルシウム可溶化率

カルシウムの可溶化率は、小アジ味噌仕込み時のカルシウム量に対する熟成 100 日目の水溶性カルシウムの割合とした。

データは平均値 \pm SD (n = 3) にて表記した。統計処理は、Student's t-test で行った。** $p < 0.01$

第3項 小アジ味噌熟成中の有機酸組成

小アジ味噌中の有機酸量の経時変化を Table 2-1 に示した。熟成開始時の有機酸総量については、クエン酸処理区が 1,565 mg/100 g、対照区が 266 mg/100 g であり、クエン酸を添加したクエン酸添加区が有意に ($p < 0.01$) 多かった。しかし、熟成 100 日目の有機酸総量は、クエン酸処理区が 1,268 mg/100 g、対照区が 1,407 mg/100 g であり、対照区の生成量が熟成開始時から有意に ($p < 0.01$) 増加したのに対し、クエン酸処理区ではほとんど変化しなかった。クエン酸については、クエン酸処理区では熟成開始時 1,420 mg/100 g であり、クエン酸添加量の 9 割程度であったことから、クエン酸処理時に添加したクエン酸は微生物による資化や酵素分解等により大きく損なわれず、有効に作用したと考えられた。その後、クエン酸量は熟成 100 日目まで約 900 mg/100 g まで有意に ($p < 0.01$) 減少した。この要因としては、微生物による資化等が考えられる。対照区ではクエン酸はほとんど検出されなかった。リンゴ酸については、両区で少量生成し、熟成 100 日目では対照区が 22 mg/100 g であり、クエン酸処理区より多く ($p < 0.05$) 生成した。コハク酸については、両区とも検出されなかった。乳酸については、対照区では熟成開始時から熟成 60 日目にかけて著しく増加 ($p < 0.01$) したが、クエン酸処理区ではほとんど増加しなかった。この要因としては、pH や一般生菌数の測定結果から、対照区では微生物が旺盛に増殖し、代謝産物として乳酸を生成したが、クエン酸処理区では微生物は一定数生育するものの増殖が抑制され、乳酸等の代謝産物の生成が少なかったと考えられた。ギ酸、酢酸については、両区とも少量生成したが、大差はなかった。ピログルタミン酸はグルタミン酸またはグルタミンから非酵素的に生成される呈味性のない有機酸である⁴²⁾。このため、熟成開始時には両試験区とも殆ど含まれなかったが、熟成 100 日目ではクエン酸処理区では 182 mg/100 g、対照区では 49 mg/100 g 生成され、クエン酸処理区で多く ($p < 0.01$) 生成した。ピログルタミン酸は、味噌⁴²⁾、いしる⁴³⁾、醤油⁴⁴⁾などの発酵食品に含まれるが、pH が低いほどその生成量が多くなるため⁴⁵⁾、クエン酸処理区で多く生成したと考えられた。

Table 2-1. 小アジ味噌熟成中の有機酸量の経時変化

	対照区 (熟成期間)					クエン酸処理区 (熟成期間)					ANOVA(P)
	0日	20日	60日	100日	0日	20日	60日	100日			
クエン酸	5 ± 0 ^d	N.D.	N.D.	7 ± 2 ^d	1,420 ± 52 ^a	1,090 ± 46 ^b	989 ± 75 ^{bc}	917 ± 29 ^c	$p < 0.01$		
リンゴ酸	11 ± 0 ^c	7 ± 1 ^c	11 ± 1 ^c	22 ± 1 ^a	5 ± 0 ^{cd}	6 ± 0 ^{cd}	11 ± 2 ^{bcd}	15 ± 0 ^{bc}	$p < 0.01$		
コハク酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	$p < 0.01$		
乳酸	227 ± 87 ^c	566 ± 25 ^b	1,260 ± 55 ^a	1,290 ± 21 ^a	137 ± 5 ^c	132 ± 51 ^c	137 ± 7 ^c	129 ± 4 ^c	$p < 0.01$		
ギ酸	11 ± 4 ^b	20 ± 2 ^a	16 ± 4 ^a	19 ± 4 ^a	N.D.	19 ± 8 ^a	13 ± 5 ^a	16 ± 8 ^a	$p < 0.01$		
酢酸	12 ± 1 ^b	46 ± 9 ^{ab}	46 ± 14 ^{ab}	20 ± 15 ^{ab}	N.D.	6 ± 2 ^{ab}	N.D.	9 ± 0 ^{ab}	$p < 0.01$		
ピログルタミン酸	N.D.	26 ± 1 ^e	37 ± 2 ^c	49 ± 4 ^d	N.D.	11 ± 2 ^c	168 ± 8 ^b	182 ± 5 ^a	$p < 0.01$		
合計	266 ± 97 ^d	664 ± 38 ^c	1,370 ± 23 ^b	1,407 ± 12 ^{ab}	1,565 ± 52 ^a	1,373 ± 96 ^{ab}	1,318 ± 74 ^{ab}	1,268 ± 42 ^{ab}	$p < 0.01$		

同一行の異なるアルファベット間は、tukey法により有意差があることを示す(n = 3、平均値 ± SD)。

N.D. : not detected

第4項 小アジ味噌熟成中の遊離アミノ酸組成

小アジ味噌熟成中の遊離アミノ酸量の経時変化を Table 2-2 に示した。熟成開始時の遊離アミノ酸総量は、クエン酸処理区では 315 mg/100 g、対照区では 267 mg/100 g であり、両試験区の差はなかったが、熟成 100 日目ではクエン酸処理区が 3,964 mg/100 g、対照区が 4,369 mg/100 g となり、対照区の生成量が有意に ($p < 0.01$) 多かった。個別の遊離アミノ酸については、熟成に伴いほとんどの遊離アミノ酸は増加したが、タウリンについては、両試験区とも 85~100 mg/100 g 程度で熟成中の変化は少なかった。システイン、ヒドロキシプロリンについては、ほとんど検出されなかった。また、対照区で熟成 100 日目までに顕著に増加した遊離アミノ酸はアラニン (クエン酸処理区の約 2 倍)、オルニチン (クエン酸処理区の 20 倍以上) であり、クエン酸処理区と比べて有意に ($p < 0.01$) 多く生成した。一方、クエン酸処理区で熟成 100 日目までに顕著に増加した遊離アミノ酸は、ヒスチジン (対照区の約 2 倍)、アルギニン (対照区の 10 倍以上) で対照区と比べて有意に ($p < 0.01$) 多く生成した。藤井らは、イカ塩辛熟成中のアミノ酸生成は主としてイカ筋肉などに内在する自己消化酵素によるもので、微生物の関与については低いことを明らかにしている⁴⁶⁾。このことから、小アジ味噌中の遊離アミノ酸は、熟成中に魚肉などのタンパク質が魚肉に内在するプロテアーゼや麹菌が生産するプロテアーゼにより分解されて生成すると考えられる。遊離アミノ酸の総量について、熟成 100 日目ではクエン酸処理区が有意に ($p < 0.01$) 少なかったものの、対照区の 9 割以上生成しており、熟成開始時から熟成 100 日目までの各区間で有意に ($p < 0.01$) 増加している。このことは、クエン酸処理区では小アジ味噌の pH がクエン酸の添加により仕込み時から pH 4.7 の低い値で推移したが、このことが原因でプロテアーゼの活性が著しく低下することはないと考えられた。

	クエン酸処理区										ANOVA(P)
	対照区					熟成期間 (日)					
	0	20	60	100	100	0	20	60	100	100	
タウリン	92 ± 9 ^c	86 ± 2 ^{ce}	85 ± 2 ^{cde}	99 ± 1 ^{bc}	99 ± 1 ^{bc}	95 ± 3 ^{abcde}	93 ± 3 ^{abcde}	85 ± 4 ^{acde}	101 ± 3 ^{abc}	101 ± 3 ^{abc}	<0.01
アスパラギン酸	4 ± 3 ^f	261 ± 9 ^c	170 ± 6 ^c	287 ± 7 ^b	287 ± 7 ^b	8 ± 0 ^f	152 ± 5 ^e	222 ± 8 ^d	339 ± 12 ^a	339 ± 12 ^a	<0.01
スレオニン	7 ± 5 ^f	164 ± 3 ^c	184 ± 5 ^b	204 ± 2 ^a	204 ± 2 ^a	9 ± 1 ^f	115 ± 4 ^e	144 ± 9 ^d	178 ± 8 ^{bc}	178 ± 8 ^{bc}	<0.01
セリン	5 ± 5 ^d	102 ± 3 ^c	123 ± 4 ^b	151 ± 2 ^a	151 ± 2 ^a	8 ± 0 ^d	96 ± 3 ^c	126 ± 6 ^b	159 ± 4 ^a	159 ± 4 ^a	<0.01
グルタミン酸	10 ± 9 ^f	473 ± 15 ^c	530 ± 18 ^b	638 ± 12 ^a	638 ± 12 ^a	17 ± 1 ^f	310 ± 8 ^e	357 ± 16 ^d	501 ± 13 ^{bc}	501 ± 13 ^{bc}	<0.01
グリシン	7 ± 4 ^f	119 ± 2 ^c	135 ± 4 ^b	162 ± 2 ^a	162 ± 2 ^a	11 ± 1 ^f	81 ± 2 ^e	99 ± 4 ^d	127 ± 3 ^{bc}	127 ± 3 ^{bc}	<0.01
アラニン	16 ± 7 ^e	336 ± 7 ^c	514 ± 14 ^b	539 ± 5 ^a	539 ± 5 ^a	19 ± 1 ^e	199 ± 6 ^f	241 ± 12 ^e	272 ± 6 ^d	272 ± 6 ^d	<0.01
シスチン	N.D.	9 ± 0 ^a	N.D.	2 ± 0 ^c	2 ± 0 ^c	N.D.	5 ± 0 ^b	N.D.	N.D.	N.D.	<0.01
バリン	11 ± 3 ^d	209 ± 5 ^b	242 ± 7 ^a	256 ± 2 ^a	256 ± 2 ^a	9 ± 0 ^d	157 ± 5 ^c	194 ± 10 ^b	239 ± 4 ^a	239 ± 4 ^a	<0.01
メチオニン	3 ± 3 ^c	132 ± 6 ^a	127 ± 4 ^a	139 ± 1 ^a	139 ± 1 ^a	5 ± 0 ^c	110 ± 2 ^b	125 ± 5 ^a	127 ± 4 ^a	127 ± 4 ^a	<0.01
イソロイシン	5 ± 3 ^c	206 ± 5 ^c	227 ± 6 ^b	254 ± 1 ^a	254 ± 1 ^a	8 ± 0 ^c	167 ± 6 ^d	195 ± 10 ^c	221 ± 1 ^b	221 ± 1 ^b	<0.01
ロイシン	12 ± 5 ^d	402 ± 11 ^b	418 ± 11 ^b	449 ± 4 ^a	449 ± 4 ^a	21 ± 1 ^d	356 ± 12 ^c	383 ± 20 ^{bc}	422 ± 6 ^{ab}	422 ± 6 ^{ab}	<0.01
チロシン	7 ± 2 ^d	153 ± 3 ^b	165 ± 5 ^{bc}	171 ± 1 ^{ac}	171 ± 1 ^{ac}	8 ± 0 ^d	139 ± 3 ^b	156 ± 10 ^b	179 ± 7 ^a	179 ± 7 ^a	<0.01
フェニルアラニン	6 ± 2 ^c	187 ± 4 ^a	190 ± 5 ^a	198 ± 1 ^a	198 ± 1 ^a	8 ± 0 ^c	163 ± 6 ^b	176 ± 9 ^{ab}	190 ± 3 ^{ab}	190 ± 3 ^{ab}	<0.01
オルニチン	3 ± 2 ^c	71 ± 2 ^c	170 ± 5 ^a	161 ± 2 ^b	161 ± 2 ^b	4 ± 1 ^e	11 ± 0 ^d	7 ± 1 ^{ed}	6 ± 0 ^{ed}	6 ± 0 ^{ed}	<0.01
リジン	19 ± 9 ^d	364 ± 9 ^a	359 ± 11 ^{ab}	363 ± 4 ^a	363 ± 4 ^a	28 ± 2 ^d	323 ± 9 ^c	331 ± 18 ^{bc}	356 ± 10 ^{ab}	356 ± 10 ^{ab}	<0.01
ヒスチジン	50 ± 4 ^c	58 ± 2 ^c	56 ± 1 ^c	49 ± 2 ^c	49 ± 2 ^c	45 ± 2 ^c	97 ± 3 ^a	83 ± 6 ^b	82 ± 4 ^b	82 ± 4 ^b	<0.01
アルギニン	11 ± 2 ^e	147 ± 4 ^d	11 ± 0 ^e	25 ± 0 ^e	25 ± 0 ^e	10 ± 1 ^e	225 ± 8 ^c	247 ± 13 ^b	264 ± 6 ^a	264 ± 6 ^a	<0.01
プロリン	0 ± 0 ^c	99 ± 2 ^b	129 ± 3 ^a	134 ± 25 ^a	134 ± 25 ^a	0 ± 0 ^c	80 ± 3 ^b	109 ± 6 ^b	105 ± 3 ^{ab}	105 ± 3 ^{ab}	<0.01
合計	267 ± 76 ^f	3,638 ± 90 ^e	3,908 ± 110 ^{bc}	4,369 ± 74 ^a	4,369 ± 74 ^a	315 ± 14 ^f	2,938 ± 91 ^e	3,359 ± 167 ^d	3,964 ± 94 ^b	3,964 ± 94 ^b	<0.01

同一行の異なるアルファベット間には、*t*-test法により有意差があることを示す(n = 3、平均値 ± SD)。

N.D. : not detected

第5項 小アジ味噌熟成中のヒスタミン量の変化

小アジ味噌熟成中のヒスタミン量の経時変化を Fig. 2-4 に示した。対照区では熟成30日目で急激に増加し、300 mg/Lに達した。その後減少し、熟成100日目には190 mg/Lとなった。クエン酸処理区では、熟成30日目まで緩やかに増加し、約140 mg/Lとなった。その後の変化は少なく、熟成100日目においても150 mg/Lであった。

ヒスタミンは、ヒスタミン生成菌の作用により遊離ヒスチジンからヒスタミンに代謝変換される⁴⁷⁻⁴⁹⁾。このため、生鮮魚では冷蔵中に、水産発酵食品ではその製造過程において、ヒスタミン生成菌が増殖するとヒスタミンが生成・蓄積する¹⁵⁾。対照区では、熟成初期にヒスタミン量が急激に増加したが、この原因はもろみ中に存在するヒスタミン生成菌が増殖し、その結果、急激な増加を引き起こしたものと推測された。さらに熟成が進むにつれ、ヒスタミン量は減少に転じた。魚肉中などに蓄積したヒスタミンは、ヒスタミン分解菌の作用により減少することが報告されていることから^{50,51)}、このヒスタミンの減少はヒスタミン分解菌の作用によるものと推測された。クエン酸処理区では、添加したクエン酸によりヒスタミン生成菌の生育が抑制された結果、緩やかにヒスタミンが蓄積したものと考えられた。ヒスタミン生成菌は、酸性条件下においてヒスタミンを生成する^{52,53)}ことから、クエン酸処理によりヒスタミンの生成が促進されることも考えられるが、本試験での約1.6%のクエン酸濃度が結果としてヒスタミン生成菌の増殖を抑制する濃度であった可能性がある。ヒスタミンの生成抑制は、魚味噌のみならず水産発酵食品に共通する課題であることから、第3章以降でさらに詳細な検討を行った。

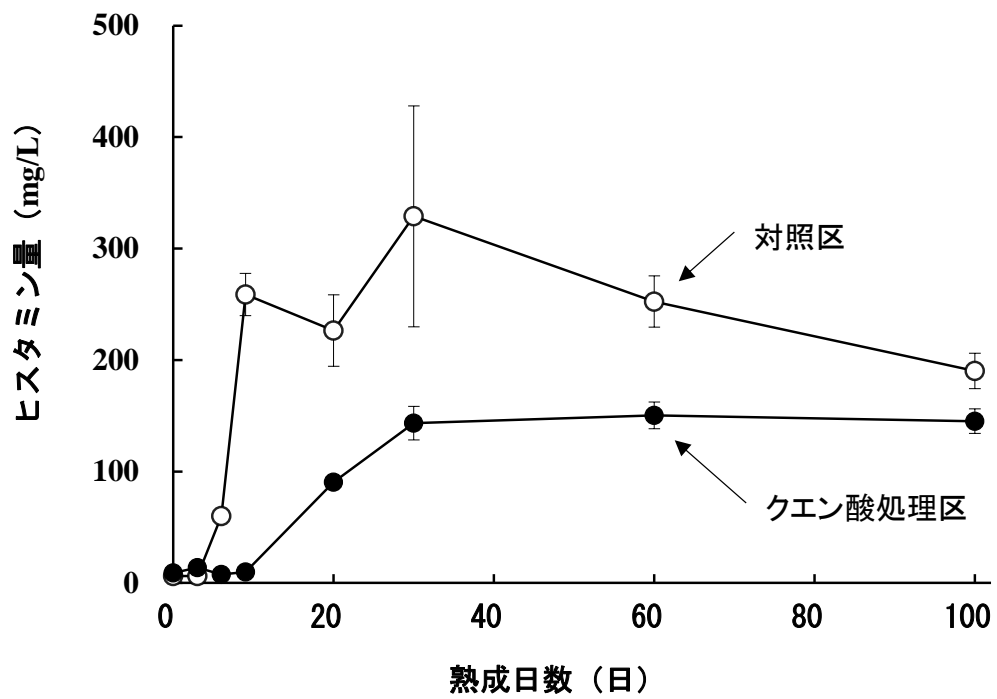


Fig. 2-4. 小アジ味噌熟成中のヒスタミン量の変化
 データは平均値 ± SD (n=3) にて表記した。

第6項 小アジ味噌熟成中の諸性状

クエン酸処理区、対照区とも熟成初期には生臭みが感じられたが、熟成の進行とともに米味噌に似た熟成香が強まり生臭みは弱まった。また、熟成初期には米麴が目立ち手触りも米麴の硬さが感じられたが、熟成の進行とともに米麴は徐々に溶解し硬さも低下した。米麴の溶解が進み、熟成香が感じられるには、対照区では約 60 日間、クエン酸処理区では約 100 日間を要した。クエン酸処理区が対照区と比べ、熟成に長期間を要する要因としては、クエン酸の添加により pH が低下 (pH 5 以下) するため、魚肉 (小アジ) 中の自己消化酵素 (プロテアーゼ) の至適 pH を下回ったことが考えられる。

100 日間熟成した小アジ味噌中の異物数を計数したところ、クエン酸処理区は 1.4 個/g、対照区は 11 個/g であり、クエン酸処理区の異物数が対照区と比べ有意に ($p < 0.01$) 少なかった (Fig. 2-5)。対照区は、骨と推定される硬く尖った異物が混ざっており、ざらついた手触りであったが、クエン酸処理区ではざらつきはほとんど感じられず、異物計数の結果を良く反映していた。その他の外観の違いとして、対照区は茶褐色で濃く、液化が進んでいたが、クエン酸処理区は明るい茶色で淡く、液化が少ない味噌様の性状であった。

市販の米味噌に小アジ味噌を 10% 配合したみそ汁を調製して、官能検査を行った。その結果、「香り」については対照区で有意 ($p < 0.05$) に好ましく、「うま味」については小アジ味噌 10% 区が有意 ($p < 0.05$) に好ましかった。その他の「酸味」、「塩味」については小アジ味噌 10% 区が好ましい傾向 (酸味: $\chi^2 = 0.6 < 3.84$ 、塩味: $\chi^2 = 1.67 < 3.84$) が認められた。また、「総合評価」については、対照区が好ましいとしたパネルが 7 名、小アジ味噌 10% 区が好ましいとしたパネルは 8 名であり、評価が 2 分した (Fig. 2-6)。総合評価についてパネルが重視したのは、「うま味」、「香り」であり、小アジ味噌 10% 区ではやや生臭みが感じられるとの意見があった。これらの結果から、小アジ味噌の呈味性の特徴として「うま味」が強い利点がある一方、「香り」について、生臭みが仕込み時と比べ弱まるものの残存することが欠点と考えられた。

山本ら²³⁾は、コウナゴ成魚と麴を用いて魚味噌を調製し、旨味の濃い製品を製造

しているが、骨の溶解不足と推定されるざらつきが認められることを報告している。これに対して、本研究では、原料に魚体全体を用いた魚味噌の製造工程にクエン酸処理工程を加えることで、骨など硬い固形物を軟化させ、食感が改善されることが判明した。クエン酸処理時間（72 時間）は、サケ鼻軟骨の酢酸浸漬に関する畑江らの報告²⁹⁾に準じたが、実用化に際しては、酸処理時間や温度、麴の添加割合など用途に応じて条件を最適化する必要がある。また、魚醤油の風味改善や塩漬魚の不快臭除去には、発酵スターターとして乳酸菌等の微生物が利用されている^{54,55)}ことから、クエン酸処理と発酵スターターとして酵母の添加を併用することにより、さらに風味改善が可能と考えられる。

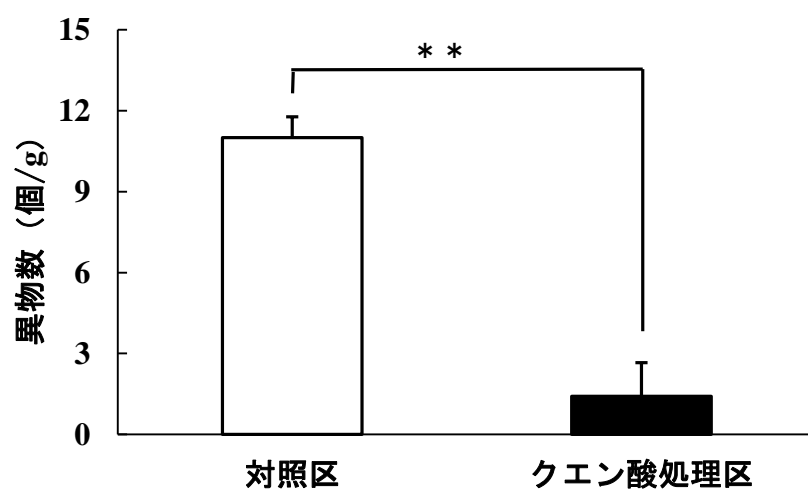


Fig. 2-5. 小アジ味噌中の異物数

熟成 100 日目の小アジ味噌中の異物を計数した。

データは平均値 ± SD (n = 3) にて表記した。

統計処理は Student's t-test で行った。

** $p < 0.01$

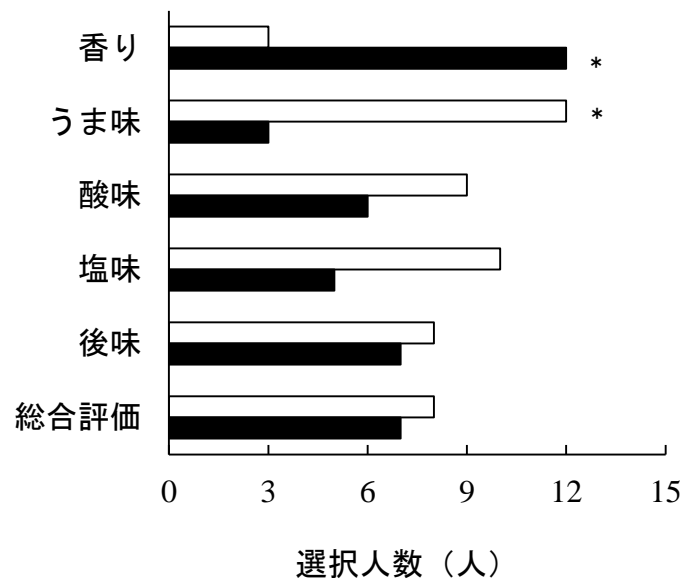


Fig. 2-6. 小アジ味噌（熟成 100 日）を用いて調製した味噌汁の官能評価

□：小アジ味噌 10% 添加区；市販の米味噌に小アジ味噌を 10% 添加して塩分が 1% となるよう熱水に溶かした。

■：対照区；市販の米味噌を塩分が 1% となるよう熱水に溶かした。

(n = 15、* $p < 0.05$)

第4節 小括

To ensure the effective usage of whole bodies of small horse mackerel, this Chapter describes the preparation of fish miso (a fermented fish product) by softening fish bones with citrate treatment. Whole horse mackerel was minced with 2.3% (w/w) citric acid for 72 h at 4°C, and fermented with 9% (w/w) NaCl and 21% (w/w) Koji at 30°C for 100 days. Compared with the miso prepared without citrate-treatment (MNC), the miso prepared with citrate-treatment (MWC) contained less hard bones (<1/8 reduction). The soluble calcium content of MWC was about 300 mg/100 g, which was considerably higher than that of MNC (130 mg/100 g). MWC contained substantial levels of free amino acids (up to 90% that in MNC), suggesting that proteins were efficiently hydrolyzed even in the presence of citrate. During the fermentation, proliferation of microorganisms in MWC was greatly suppressed. As a result, the accumulation of various products of microbial metabolism, such as lactic, was suppressed. Sensory evaluation suggested that the addition of MWC (10%) to commercial miso-paste enhanced the umami taste. Collectively, these findings indicate that citrate-treatment of miso prepared from whole bodies of small horse mackerel might be useful for dissolving fish bone and increasing the soluble calcium content.

第3章 小アジ味噌からのヒスタミン生成菌単離・同定とヒスタミン生成に 及ぼす有機酸の影響

第1節 緒言

ヒスタミンは、バイオジェニックアミン（ $-\text{NH}_2$ 、 $=\text{NH}$ 、 $\equiv\text{N}$ と炭化水素をもち生理活性を有する含窒素化合物の総称）であり、食品の安全性に関する懸念物質のひとつである。特に、ヒスタミンは魚介類の摂取により引き起こされるアレルギー様食中毒の原因物質として食品衛生上、問題となる^{56,57)}。ヒスタミンは、ヒスチジンが前駆物質であり、微生物が示すヒスチジン脱炭酸酵素の作用により生成する。魚類には遊離ヒスチジンが多く含まれるため、鮮魚では不適切な温度管理により、水産発酵食品では製造過程の発酵中において、ヒスタミン生成菌が増殖するとヒスタミンが生成・蓄積する。ヒスタミンの規制値は、CODEXなどの国際機関により規定されており、ヒスチジン含量が高い魚種を対象に腐敗基準として100 mg/Lを超えないこと、衛生および取扱基準として200 mg/Lを超えないこととされている⁵⁸⁾。ヒスタミン生成菌はワイン、チーズ、塩蔵魚などの発酵食品中にも存在し、これらの製造過程でヒスタミンが多量に生成する危険性をはらんでいる⁵⁹⁾。特に、*Staphylococcus* 属は高塩分環境において増殖可能であり、魚の塩漬^{60,61)}、発酵食肉製品⁶²⁻⁶⁴⁾、大豆製品⁶⁵⁾等からヒスタミン生成菌として分離されている。ヒスタミン生成菌の制御については、*Morganella morganii*, *Raoultella planticola*, *Photobacterium phosphoreum*, *P. damsela*などのグラム陰性菌に対して精油蒸気⁶⁶⁾や有機酸を含む食品添加物⁶⁷⁾による制御が検討されているが報告例は極めて少ない。第2章において、小アジ味噌の仕込み時にクエン酸を添加することより、魚の骨等が軟化される〔クエン酸浸漬処理濃度2.3% (w/w)〕と同時にヒスタミンの蓄積が抑制される〔クエン酸終濃度1.6% (w/w)〕傾向が認められた。そこで本章では、小アジ味噌からヒスタミン生成菌を単離し、有機酸添加によるヒスタミン生成菌の制御条件を詳細に検討した。また、糖、油脂は本菌によって資化され、酸を生成することから、糖、油脂の添加による静菌作用についても検討を行った。

第2節 実験材料および方法

第1項 ヒスタミン生成菌の分離

小アジ味噌からのヒスタミン生成菌の分離は、限界希釈法⁶⁸⁾により行った。すなわち、ヒスタミンの生成が認められた小アジ味噌約5gを滅菌した遠沈管に採取し、ヒスチジンプロス⁶⁸⁾で10倍に希釈・混合した。この希釈原液をさらに段階的に10段階まで希釈(1段は10倍希釈)したそれぞれの希釈液を24well型マイクロプレート(Orange Scientific, Belgium)に3wellずつ注入し、30°Cの恒温庫で2週間培養した。培養後の希釈液をヒスタミン測定キット(チェックカラーヒスタミン、キッコーマン、千葉)を用いてヒスタミンの生成を確認してヒスタミンが認められた最も希釈段階の高いwellの希釈液を選抜し、これをさらに 10^{-6} ~ 10^{-8} 倍まで希釈(分離の確率を高くするため)した。この培養液を96well型マイクロプレート(Orange Scientific, Belgium)すべてのwellに100 μ Lずつ注入し、30°Cの恒温庫で5日間培養した。培養後の希釈液をヒスタミン測定キット(チェックカラーヒスタミン、キッコーマン、千葉)を用いてヒスタミンの生成が確認できた培養液をヒスチジンプロス寒天培地に塗抹してコロニーを形成させ、さらに、このコロニーを数回純培養した後、再度ヒスタミンの生成を確認後、分離した。分離したヒスタミン生成菌は滅菌したグリセロールに分散させ、-70°Cにて保管した。

第2項 ヒスタミン生成菌の同定

ヒスタミン生成菌の同定は、PCR法により行った。すなわち、分離したヒスタミン生成菌をLB培地で37°C、20時間培養した。培養後、1mLの培養液を採り遠心分離により集菌してTE緩衝液(10mmol/L Tris-Cl, 1mmol/L EDTA; pH 8.0)で洗浄後、同緩衝液50 μ Lに懸濁した。ガラスビーズ(直径0.1mm、Biospec)を加えて、1分間ボルテックスミキサーにより振とう処理して菌体を破碎した。遠心分離により破碎菌体とガラ

スビーズを除去し、DNA 溶液とした。DNA 溶液(5 μ L)を鋳型とし、EX-taq DNA ポリメラーゼ (タカラバイオ、滋賀) を用いて PCR 増幅反応を行った。プライマーは 27F と 1492R⁶⁹⁾を用い、94°C2 分の加熱処理の後、94°C30 秒、50°C60 秒、72°C90 秒の熱サイクルを 30 サイクル繰り返した。得られた PCR 産物を Freeze'N Squeeze DNA extraction kit (Bio-Rad, USA) を用いて精製し、DNA シークエンサー (Longread Tower、ベリタス、東京) に供して塩基配列を決定した。使用したプライマーは Table 3-1 に示した。得られた塩基配列を BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) プログラムにより Genbank データベース中の塩基配列と相同性の比較を行った。

Table 3-1. 塩基配列解析に用いたプライマー

Name	Sequence
27F	5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'
1492R	5'-TACGGYTACCTTGTTACGAC-3'
16STYHFW	5'-CAATCGGCACCGAAAGACTAATCCA-3'
16STYHRV	5'-CCATGCACCACCTGTCACTCTGTCC-3'

第3項 ヒスタミン生成菌の培養培地

ヒスタミン生成菌によるヒスタミンの生成については、低 pH 環境におけるストレス応答によるものと考えられている⁷⁰⁻⁷³⁾。したがって、ヒスタミン生成菌をヒスチジンおよびグルコースを含む Luria-Bertani (LB) 培地により培養するとグルコースが資化され有機酸が生成されるためヒスタミンが大量に生成される可能性がある。このため、ヒスタミン生成菌の培養は、グルコースを含まない LB 培地を用いて行った。LB 培地 (1%トリプトン、0.5%酵母エキス、1%塩化ナトリウムを含む) は NaOH で pH 7 に調整した。小アジ味噌から分離したヒスタミン生成菌は、LB 寒天培地プレート上で毎週 37°C で 2 日間継代培養した。

第4項 ヒスタミン生成菌の培養方法

供試菌株は、事前に試験管内の LB 培地 (10 mL) で振とう培養機 (Monosin II^A タイテック、埼玉) を用いて 37°C、好気条件下で 18 時間振とう培養 (40 strokes/min) して前培養した。前培養液 (0.1 mL) を試験管内の 0.5%濃度のヒスチジンと各種濃度の有機酸、糖、油脂を含む LB 培地 10 mL に接種して 37°C、好気条件下で 6~7 日間 (有機酸添加培地は 6 日間、糖・油脂添加培地は 7 日間)、前培養と同様に連続振とう培養したものを試験溶液とした。なお、LB 培地に添加した有機酸 (酢酸、リンゴ酸、クエン酸、乳酸) の濃度は、0、10、30、60、80、および 100 mmol/L とした。有機酸を添加した LB 培地の pH は、それらのナトリウム塩を用いて pH 5 に調整した。有機酸を添加しない LB 培地 (500 mmol/L MES、0.5%ヒスチジンを含む) は、5 mol/L NaOH で pH 5 に調整した。また、LB 培地に添加した糖 (グルコース、ラクトース、マルトース、マンノース、キシロース、スクロース) の濃度は、0、0.5、1、3 および 10% とした。LB 培地に添加した油脂 (大豆油、コーン油、およびオリーブ油) の濃度は、0、1、3 および 10% とした。これらの培養条件下で培養した試験管から定期的にサンプリングを行った。サンプリングは一度だけ行い、その後は使用しなかった。試験結果は 3 回の実験結果を示した (平均値 ± SD)。

第5項 ヒスタミン生成菌の増殖、pH、ヒスタミン量の測定

ヒスタミン生成菌の増殖は、濁度を指標とし、吸光度計（SP20a、島津製作所、京都）により 660 nm（OD₆₆₀）の吸光度を測定した。培地の pH は pH メーター（M-12、堀場製作所、京都）を使用して測定した。ヒスタミン量の測定は、第2章と同様の方法で行った。

第6項 ヒスタミン生成菌の増殖とヒスタミンの蓄積を抑制する

有機酸の最小増殖阻止濃度の定義

対照区（有機酸 0 mmol/L 添加区）でのヒスタミン蓄積量は 170 mg/L 以下であったことから、TYH1 株培養中のヒスタミンの蓄積と増殖を抑制する有機酸の最小増殖阻止濃度は、ヒスタミンの蓄積を 170 mg/L 以下に抑制し、かつ、濁度が OD₆₆₀ < 1 となる濃度と定義した。

第7項 有機酸の測定

有機酸の測定試料は、培養液をメンブランフィルター（DISMIC 25HP045AN、アドバンテック東洋、東京）を用いてろ過し、得られたろ液とした。有機酸の測定は、高速液体クロマトグラフィー（有機酸分析システム、島津製作所、京都）を用いて行った。分離条件は、第2章と同一条件とした。

第8項 ヒスタミン生成菌による糖の資化性評価

ヒスタミン生成菌による糖の資化性は、酵素活性キット（API 50 CH、API システム、東京）をプロトコルに従い使用して評価した。すなわち、LB 寒天培地プレート上で純培養した TYH1 株のコロニーを滅菌綿棒で採取し、菌液接種用培地（アピ 50 CHB/CHE メディウム）に分散させた。この培地（菌液）をアピ 50 CH プレート上の基質として各種糖が含まれた（基質の異なる）マイクロチューブに分注した。このプレー

トを 37°C で 48 時間培養して 24 および 48 時間後に菌液の色を目視で確認し、赤色から黄色に変化したマイクロチューブを資化性があると判定した。なお、資化性の評価は、以下のとおりとした。24 時間で変色：資化性あり。48 時間で変色：資化が遅い。黄色の変色が弱い：資化性が弱い。

第 3 節 結果および考察

第 1 項 ヒスタミン生成菌の分離と同定

第 2 章で用いたヒスタミンの蓄積が観察された小アジ味噌からヒスタミン生成菌株 (TYH1 株) を分離した。この株の 16S rDNA を、PCR 法により増幅し、アガロースゲル電気泳動により PCR 産物を検出した結果、約 1.5 kbp の DNA を示すバンドが得られた (Fig. 3-1)。この DNA の塩基配列を解析した結果、1437 bp の配列が得られた (Fig. 3-2)。得られた塩基配列を Genbank データベース中の塩基配列と比較した結果、*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 など各種 *S. epidermidis* の塩基配列に 99% 以上の相同性を示した (Table 3-2)。以上の結果より、TYH1 株は *Staphylococcus epidermidis* と同定された。

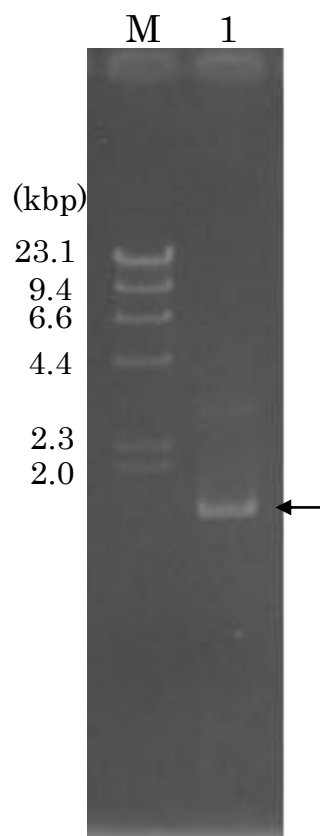


Fig. 3-1. TYH1 株 16S rDNA の PCR 反応による増幅結果

レーン M : マーカー (λ/HindIII digest、ニッポンジーン)

レーン 1 : TYH1 株 PCR 産物

矢印は PCR 産物 (16S rDNA) を示す。

1 GCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAGACGAGGAGCTTGCTCCTCTGACGTTAGCGGCG 60
 61 GACGGGTGAGTAACACGTGGATAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGG 120
 121 AGCTAATACCGGATAATATATTGAACCGCATGGTTCAATAGTGAAAGACGGTTTTGCTGT 180
 181 CACTTATAGATGGATCCGCGCCGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCA 240
 241 ACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGA 300
 301 CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAC 360
 361 GCCGCGTGAGTGATGAAGTCTTCGGATCGTAAACTCTGTTATTAGGGAAGAACAATG 420
 421 TGTAAGTAACTATGCACGTCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC 480
 481 CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGC 540
 541 GCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTG 600
 611 GAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAAGGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATG 660
 661 CGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCAGATTCTGGTCTGTAAGTACGCTG 720
 721 ATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACG 780
 781 ATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCAC 840
 841 TCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACA 900
 901 AGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACAT 960
 961 CCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCAT 1020
 1021 GGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT 1080
 1081 AAGCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAG 1140
 1141 GAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTAC 1200
 1201 AATGGACAATACAAAGGGTAGCGAAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCT 1260
 1261 CAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTATATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGA 1320
 1321 TCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGTCTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAG 1380
 1381 AGTTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCATTTGGAGCTAGCCGTGAAGGTGG 1437

Fig. 3-2. TYH1 株の 16SrDNA 塩基配列

数字は塩基数を示す。

Table 3-2. TYH 1 株 16S rDNA 塩基配列の相同性比較結果

Strain	Accession No.	Identity (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228, 16S ribosomal RNA gene	CP022247	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14.1.R1, 16S ribosomal RNA gene	CP018842	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> BPH0662, 16S ribosomal RNA gene	LT571449	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> L3, 16S ribosomal RNA gene	KU212143	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> W 3/4, 16S ribosomal RNA gene	KJ438691	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> BAB-2554, 16S ribosomal RNA gene	KC443110	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> JDM2_4A, 16S ribosomal RNA gene	JN644522	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> cp28, 16S ribosomal RNA gene	JN082258	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IMAU:10205, 16S ribosomal RNA gene	GU138533	99.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KL-004, 16S ribosomal RNA gene	AY030340	99.8

第2項 TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する 酢酸の影響

本研究で同定された *Staphylococcus epidermidis* TYH1 株 (TYH1 株) によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する酢酸の影響を Fig. 3-3 に示した。6 日間培養後のヒスタミン量については、酢酸濃度 30 mmol/L では顕著に生成され、蓄積量は 1,500 mg/L 以上であった。酢酸濃度 10 mmol/L または 60 mmol/L では、6 日間でそれぞれ 500 mg/L、1,000 mg/L 蓄積した。一方、酢酸濃度 80 mmol/L 以上では培養中のヒスタミンの蓄積量は 90 mg/L 以下であった。pH については、酢酸濃度 0~30 mmol/L では、培養の早い時期で著しく上昇 (pH > 7、2 日後) した。しかしながら、酢酸濃度 60~100 mmol/L の pH は、培養期間中上昇しなかった。TYH1 株の増殖については、酢酸濃度 30 mmol/L までは増殖したが、酢酸濃度 60 mmol/L ではやや抑制され、80 mmol/L 以上では増殖しなかった。したがって、TYH1 株によるヒスタミンの蓄積と増殖を抑制する酢酸の最小増殖阻止濃度は 80 mmol/L であると判断された。

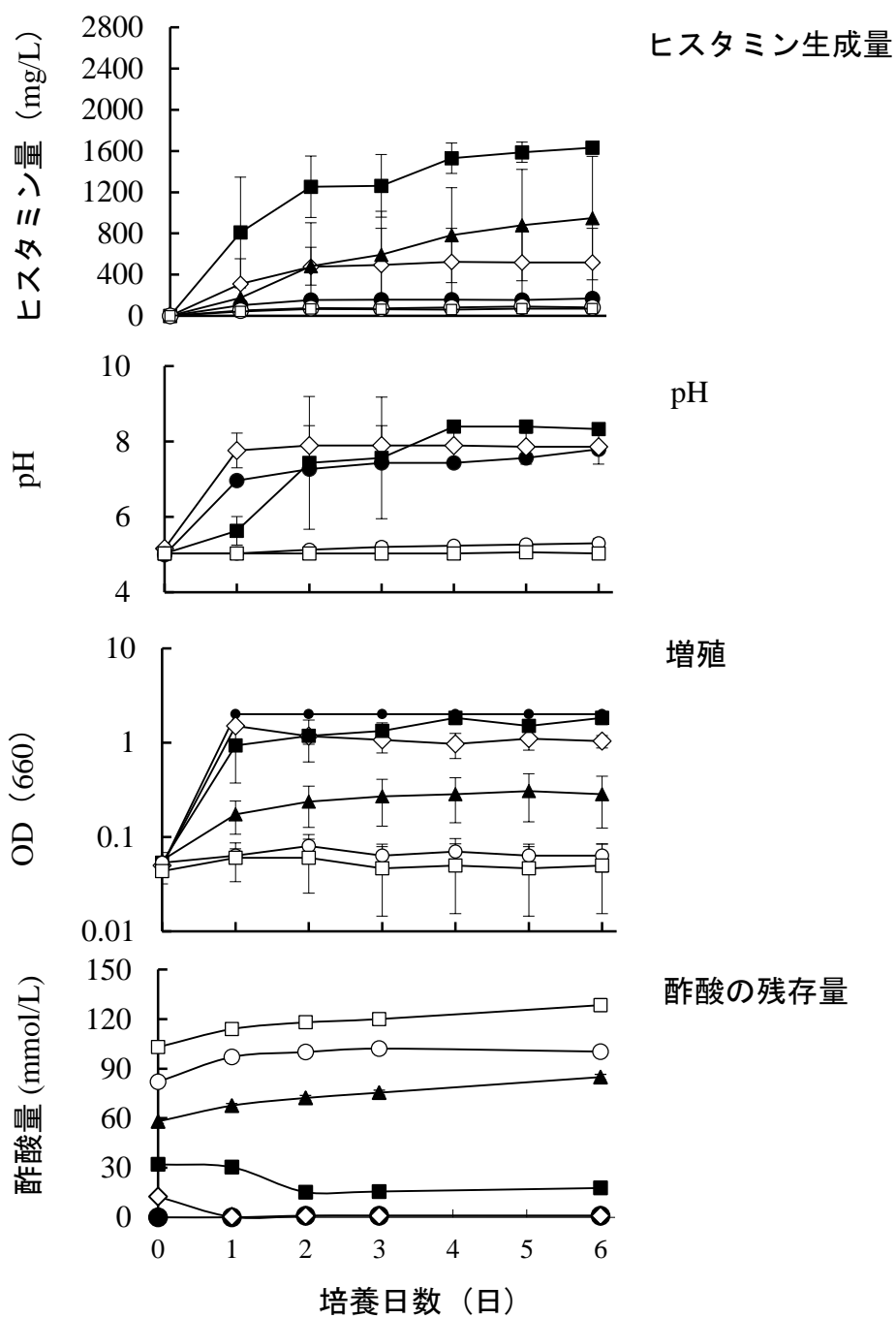


Fig. 3-3. 酢酸の添加濃度がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖、酢酸の残存量に及ぼす影響

酢酸添加濃度：0 mmol/L (●)；10 mmol/L (◇)；30 mmol/L (■)；60 mmol/L (▲)；80 mmol/L (○)；100 mmol/L (□)

平均値 ± SD (n = 3)

第3項 TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する リンゴ酸の影響

TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するリンゴ酸の影響を Fig. 3-4 に示した。6日間培養後のヒスタミン量については、リンゴ酸濃度 10、30、60 mmol/L では顕著に生成され、蓄積量は 1,500 mg/L 以上であった。リンゴ酸濃度 80 mmol/L では、6日間で 1,000 mg/L 蓄積した。一方、リンゴ酸濃度 100 mmol/L では培養中のヒスタミンの生成量は約 190 mg/L であった。pH については、リンゴ酸濃度 10 mmol/L または 30 mmol/L では培養の後半に上昇 (pH > 7、4日後) し、リンゴ酸濃度 60 mmol/L または 80 mmol/L では培養後半にやや上昇した。しかしながら、リンゴ酸濃度 100 mmol/L では pH は培養中に上昇しなかった。TYH1 株の増殖については、リンゴ酸濃度 10、30 mmol/L では増殖したが、60、80、100 mmol/L ではやや抑制された。しかしながら、100 mmol/L でも完全には増殖が抑制されなかった。したがって、TYH1 株によるヒスタミンの蓄積と増殖を抑制するリンゴ酸の最小増殖阻止濃度は > 100 mmol/L であると判断された。

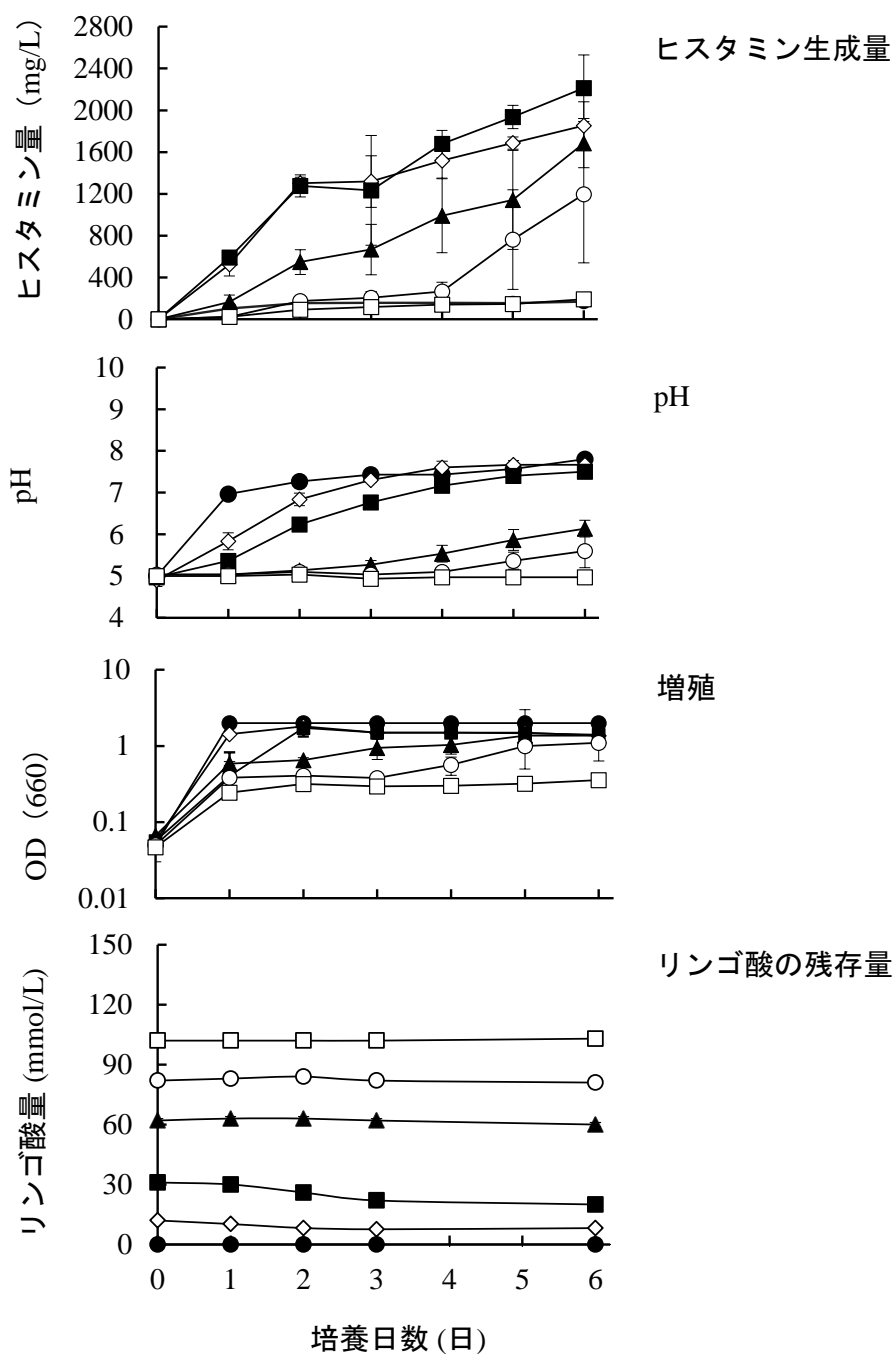


Fig. 3-4. リンゴ酸の添加濃度がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖、リンゴ酸の残存量に及ぼす影響

リンゴ酸添加濃度：0 mmol/L (●)；10 mmol/L (◇)；30 mmol/L (■)；60 mmol/L (▲)；80 mmol/L (○)；100 mmol/L (□)
 平均値 ± SD (n = 3)

第4項 TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する クエン酸の影響

TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するクエン酸の影響を Fig. 3-5 に示した。6日間培養後のヒスタミン量については、クエン酸濃度 10 mmol/L では、顕著に生成され、蓄積量は 1,500 mg/L 以上であった。一方、クエン酸濃度 30 mmol/L では培養 6 日間のヒスタミンの生成量は約 150 mg/L であった。pH については、クエン酸濃度 10 mmol/L では、培養の後半にやや上昇した (pH > 6、3 日後)。しかしながら、クエン酸濃度 30 mmol/L 以上の pH は、培養期間中に上昇しなかった。TYH1 株の増殖については、クエン酸濃度 10 mmol/L では増殖した。しかし、クエン酸濃度 30 mmol/L では、増殖は一定程度抑制され、クエン酸濃度 60 mmol/L 以上では増殖が抑制された。したがって、TYH1 株によるヒスタミンの蓄積と増殖を抑制するクエン酸の最小増殖阻止濃度は 30 mmol/L であると判断された。

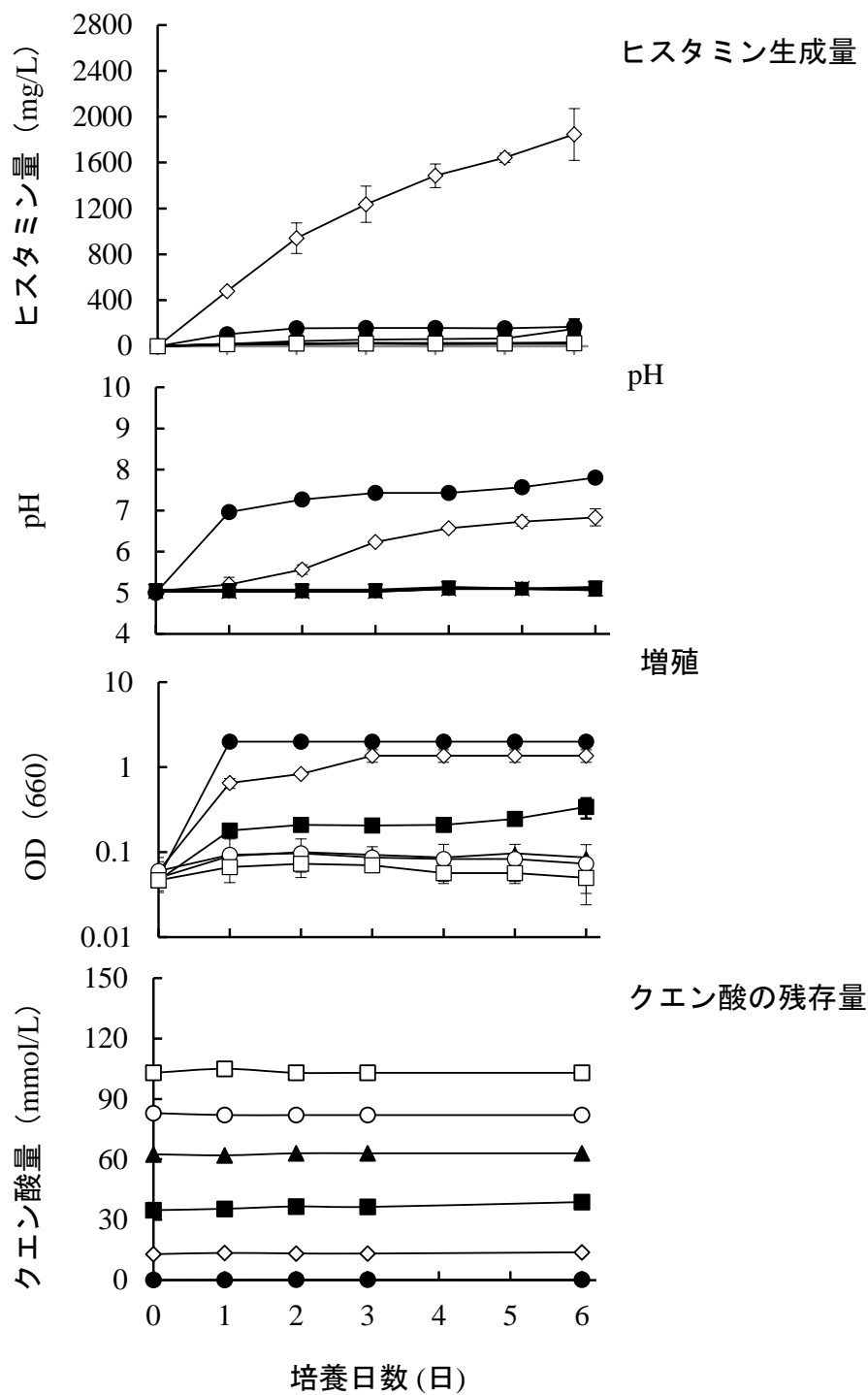


Fig. 3-5. クエン酸の添加濃度がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖、クエン酸の残存量に及ぼす影響

クエン酸添加濃度：0 mmol/L (●)；10 mmol/L (◇)；30 mmol/L (■)；60 mmol/L (▲)；80 mmol/L (○)；100 mmol/L (□)
 平均値 ± SD (n = 3)

第5項 TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する 乳酸の影響

TYH1株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する乳酸の影響を Fig. 3-6 に示した。6日間培養後のヒスタミンについては、乳酸濃度 10 mmol/L 以上で 100 mg/L 以下となり、顕著に抑制された。pH については、乳酸濃度 10 mmol/L 以上で培養の早期に著しく上昇 (pH > 7、1日後) した。TYH1株の増殖については、乳酸濃度 10 mmol/L 以上で増殖し、乳酸濃度 100 mmol/L でも抑制されなかった。したがって、TYH1株によるヒスタミンの蓄積と増殖を抑制する乳酸の最小増殖阻止濃度は > 100 mmol/L であると判断された。

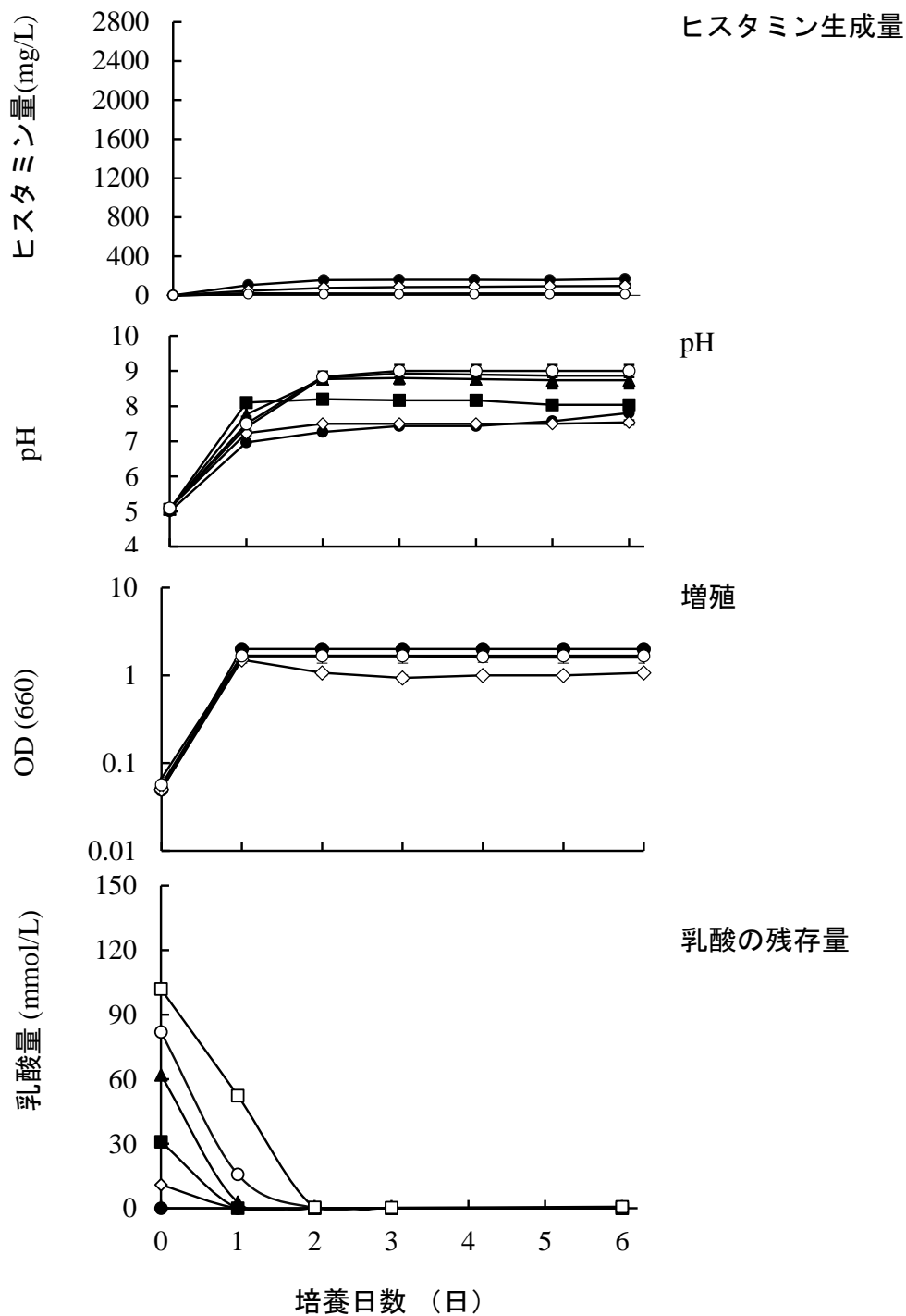


Fig. 3-6. 乳酸の添加濃度がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖、乳酸の残存量に及ぼす影響

乳酸添加濃度：0 mmol/L (●)；10 mmol/L (◇)；30 mmol/L (■)；60 mmol/L (▲)；80 mmol/L (○)；100 mmol/L (□)

平均値 ± SD (n = 3)

第6項 TYH1株による有機酸の資化性評価

培地に添加した4種類の有機酸（酢酸、リンゴ酸、クエン酸、乳酸）の培養後の残存濃度を Fig. 3-3、3-4、3-5、3-6、3-7 に示した。酢酸量については、10、30 mmol/L の添加では6日間の培養中に残存濃度が減少した。しかしながら、60 mmol/L 以上の添加では、逆に残存濃度が増加した (Fig. 3-3)。リンゴ酸量については、10、30 mmol/L の添加では6日間の培養中に残存濃度がやや減少した。しかし、60 mmol/L 以上の添加では6日間の培養中に残存濃度はほとんど変化しなかった (Fig. 3-4)。クエン酸量については、10~100 mmol/L の添加では6日間の培養中に残存濃度の変化はほとんどなかった (Fig. 3-5)。乳酸量については、10~100 mmol/L の添加では6日間の培養中にほぼ消失 (Fig. 3-6)、60 mmol/L 以上の添加では、約 30 mmol/L の酢酸の生成が認められた (Fig. 3-7)。

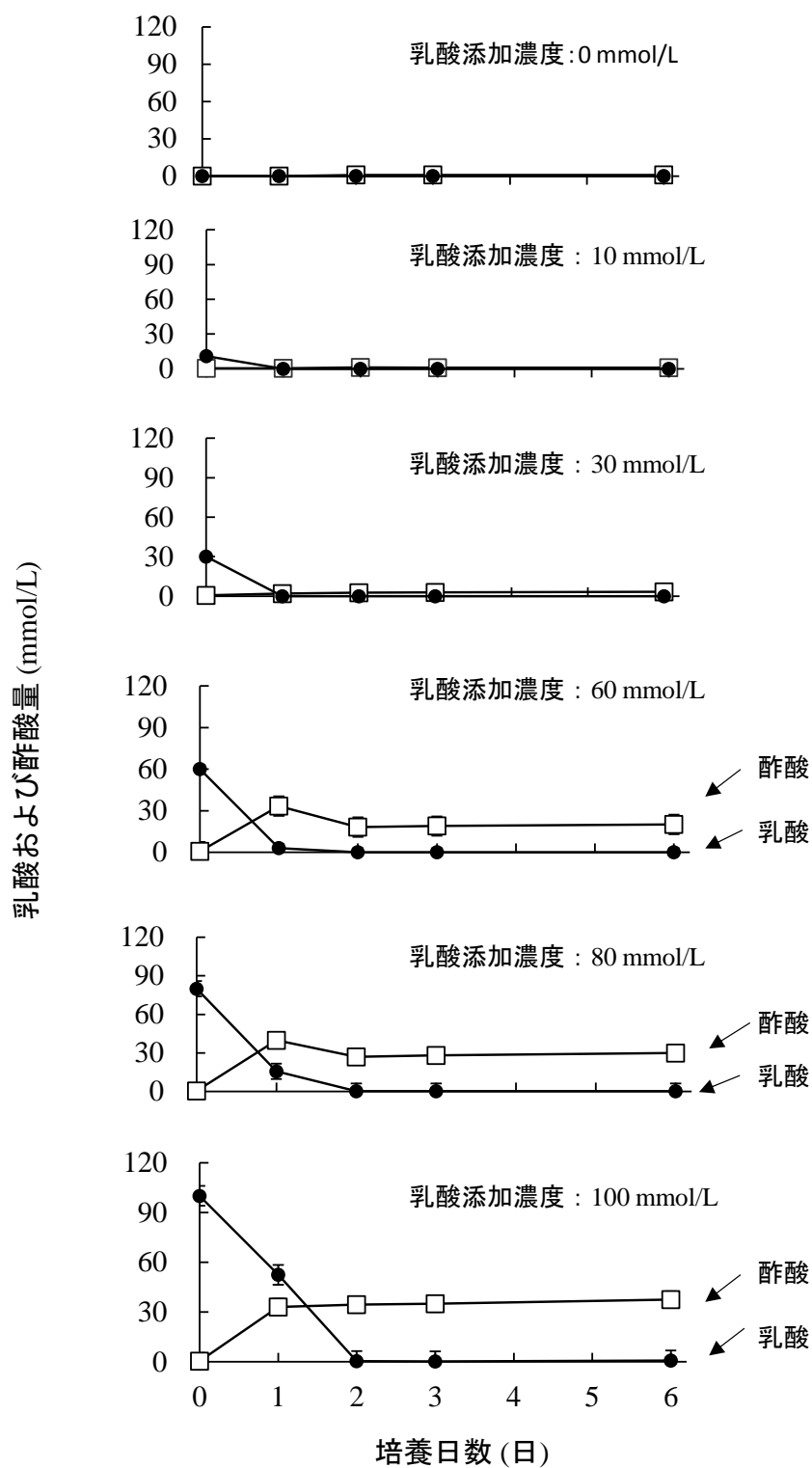


Fig. 3-7. 乳酸の添加濃度がTYH1株の酢酸の生成と乳酸の残存量に及ぼす影響

□, 酢酸; ●, 乳酸.

平均値 ± SD (n = 3)

第7項 TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するグルコースの影響

TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するグルコースの影響を Fig. 3-8 に示した。ヒスタミン量については、7 日間の培養においてグルコース無添加区では 170 mg/L 以下であったが、グルコース濃度 0.5、1、3%のいずれの添加区においても、ヒスタミンの生成量は著しく増加し、3,300 mg/L 以上に達した。ヒスタミン量はグルコース濃度を 10%とした場合においても、ほぼ同濃度のヒスタミン (約 3,300 mg/L) が蓄積した。pH については、0.5、1、3%濃度のグルコースを添加することにより、培養 1 日目の早い段階で pH 5 から pH 4.3 以下に急激に低下し、この pH 低下がヒスタミンの生成を促進させたものと考えられた。TYH1 株の増殖については、グルコース添加による影響は僅かであった。TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するラクトース、マルトース、スクロース、マンノース、キシロース添加の影響をグルコースと同様に調べた。その結果、ヒスタミン量については、7 日間の培養中にラクトース、マルトース、マンノース、スクロース濃度 1%の添加により、著しく増加し 2,500 mg/L 以上に達した。しかしながら、キシロース濃度 1%の添加では、ヒスタミン量は 900 mg/L 以下であった (Fig. 3-9)。これらの糖の添加濃度を 3、10%とした場合についても、ほぼ同程度 (2,500 mg/L 以上) のヒスタミンが蓄積した。これらの結果からラクトース、マルトース、スクロース、マンノース、キシロースの添加により、ヒスタミンの生成が促進されることが明らかとなった。ヒスタミンの生成抑制効果は、グルコースの添加による効果は認められず、糖の種類を替えても顕著な効果は期待できないと判断された。

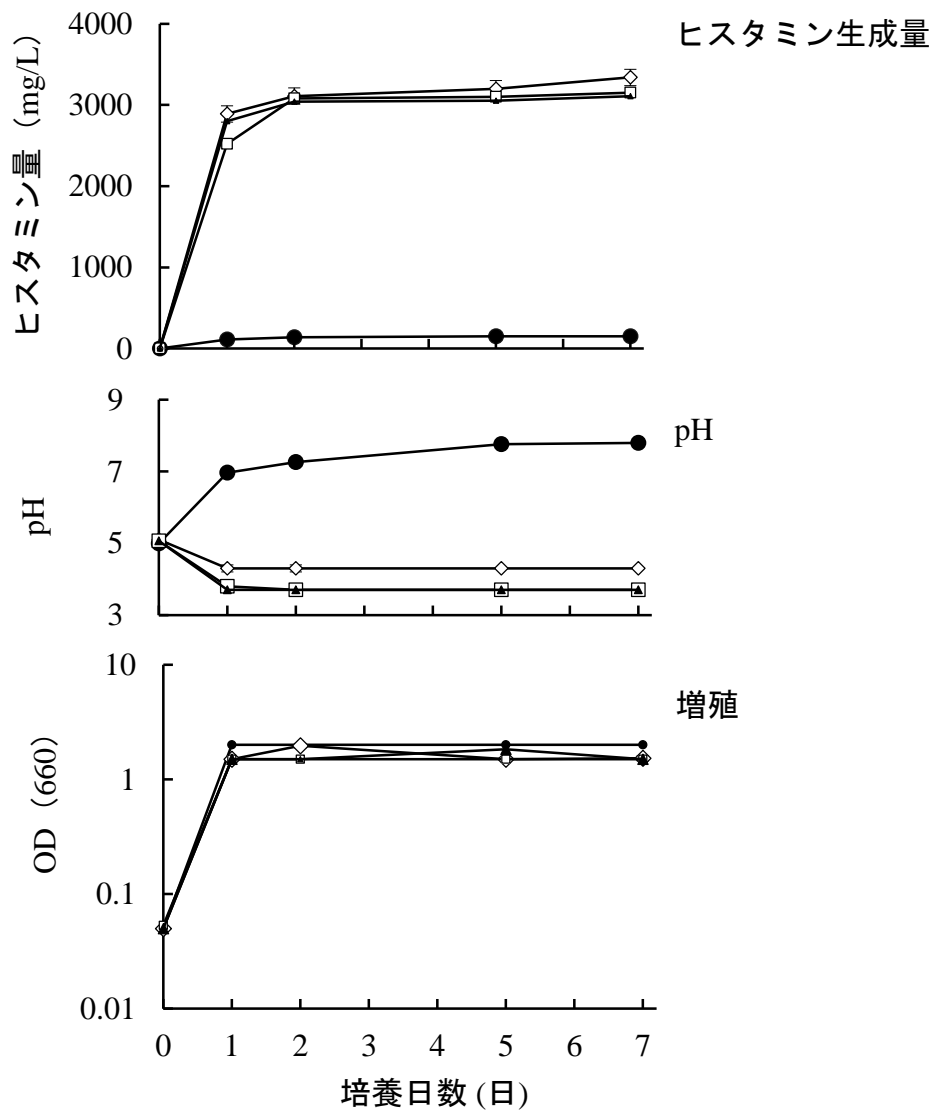


Fig. 3-8. グルコースの添加濃度がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖に及ぼす影響

グルコース添加濃度：0% (●) ; 0.5% (◇) ; 1% (□) ; 3% (▲)
 平均値 ± SD (n = 3)

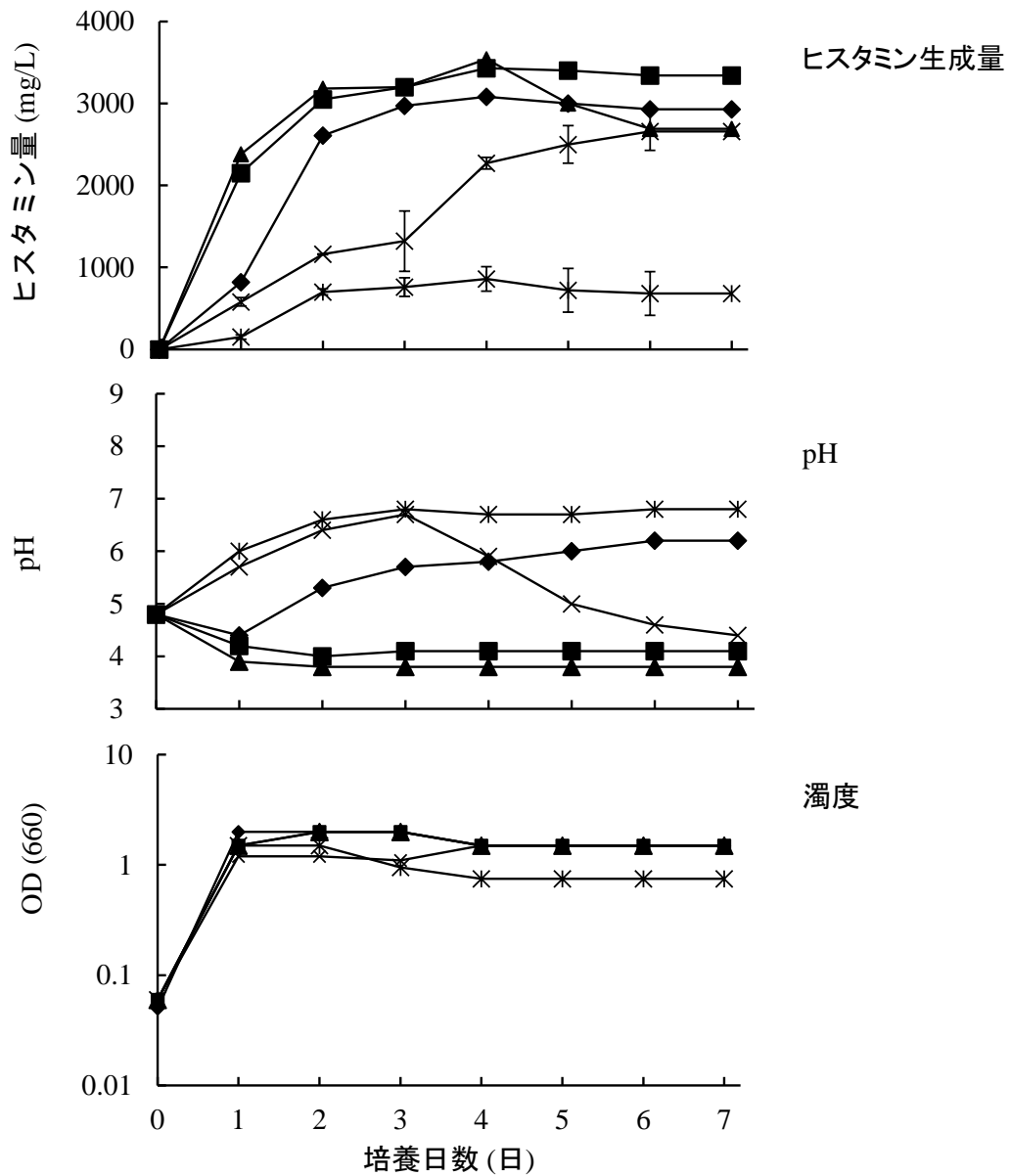


Fig. 3-9. ラクトース、マルトース、スクロース、マンノース、キシロースの添加（1%濃度）がTYH1株のヒスタミン生成、pH、増殖に及ぼす影響

ラクトース（◆）；マルトース（■）；スクロース（▲）；
 マンノース（×）；キシロース（*）
 平均値 ± SD (n=3)

第8項 TYH1株による糖の資化性評価

TYH1株の糖の資化性を市販の酵素活性キットを用いて評価した。その結果、スクロース、マルトース、ラクトース、は24時間後に培地の色に変化したため、資化性があると判定された。マンノースは24時間後では培地の色に変化しなかったが48時間後に変化したため、資化が遅いと判定された。キシロースは48時間後の色の変化が弱いいため、資化性が弱いと判定された (Table 3-3)。これらTYH1株による糖の資化性評価結果をKloos and Schleifer⁷⁴⁾がまとめた各種*S. epidermidis*の資化性評価と比べると、ほぼ一致していた。

Table 3-3. *S. epidermidis* による各種糖の資化性

	<i>S. epidermidis</i> [※]	TYH1株
キシロース	—	弱い
スクロース	+	有り
マルトース	+	有り
マンノース	(+)	遅い
ラクトース	d	有り

※Kloos and Schleifer⁷⁴⁾

＋; 90%以上の株で資化性有り

—; 90%以上の株で資化性なし

(); 資化が遅い

d; 11~89%の株で資化性有り

第9項 TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する 大豆油添加による影響

TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対する大豆油添加による影響を Fig. 3-10 に示した。ヒスタミン量については、7 日間の培養中に大豆油無添加区で 170 mg/L 以下であったが、大豆油濃度 1%、3%のいずれの添加区においても、ヒスタミンの生成量は著しく増加し、約 2,000 mg/L に達した。ヒスタミンの生成量は、大豆油濃度を 10% としても、ほぼ同濃度のヒスタミン（約 2,000 mg/L）が生成した。pH については、1、3%濃度の大豆油を添加することにより、無添加の場合と比較して緩やかに上昇し、培養 7 日後まで pH 6.7 以下であった。この低 pH の維持がヒスタミンの生成を促進させたものと考えられた。TYH1 株の増殖については、大豆油の添加にはほとんど影響されなかった。TYH1 株は油脂（トリブチリン）を加えた寒天プレート上にクリアゾーンを伴ったコロニーを形成したため（Fig. 3-11）、リパーゼ活性を有すると判断された。したがって、油脂の添加により脂肪酸が生成するため、培養中の pH の上昇が抑制されたと考えられた。TYH1 株によるヒスタミン生成、pH、増殖に対するコーン油、オリーブ油添加による影響を大豆油と同様に調べた。その結果、ヒスタミン量については、7 日間の培養中にコーン油、オリーブ油濃度 1%の添加により、ヒスタミン量が著しく増加し、1,500 mg/L 以上に達した（Fig. 3-12）。TYH1 株の増殖は、1%濃度のコーン油、オリーブ油の添加による影響はほとんどなかった。これらの油脂の濃度を 3、10%とした場合においても、ほぼ同程度のヒスタミンが蓄積した。コーン油、オリーブ油の添加により、ヒスタミンの生成が促進されることが明らかとなった。油脂の添加によるヒスタミンの生成抑制効果は期待できないと判断された。

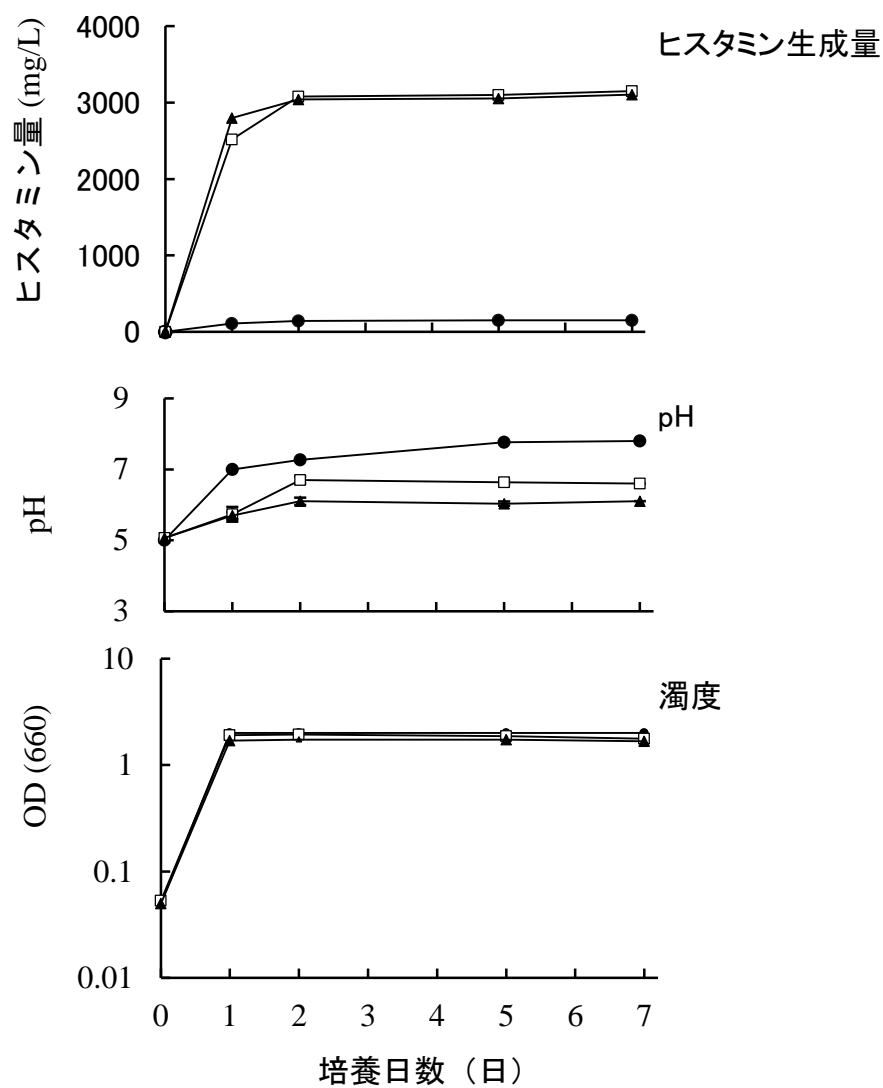


Fig. 3-10. 大豆油の添加濃度が TYH1 株のヒスタミン生成、pH、増殖に及ぼす影響

大豆油添加濃度： 0% (●) ; 1% (□) ; 3% (▲)

平均値 ± SD (n=3)

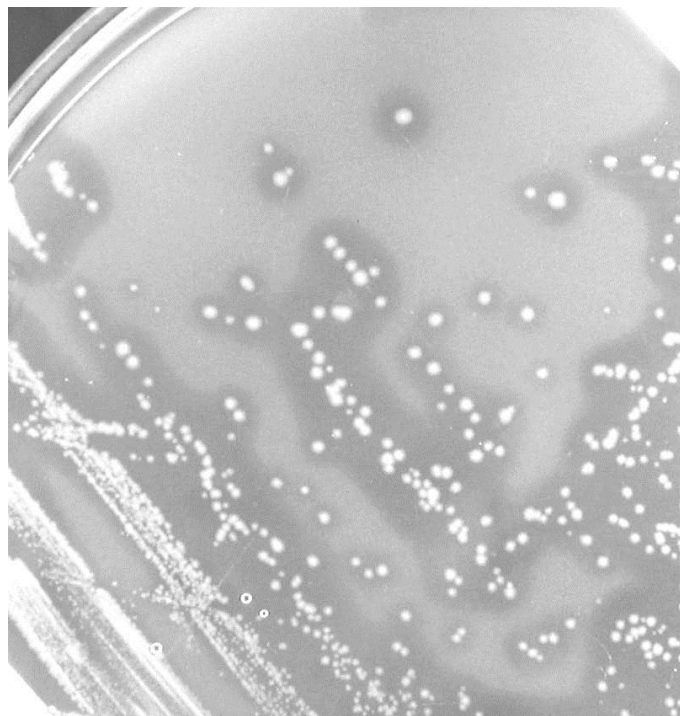


Fig. 3-11. トリブチリンプレート上の *S. epidermidis* TYH1 株

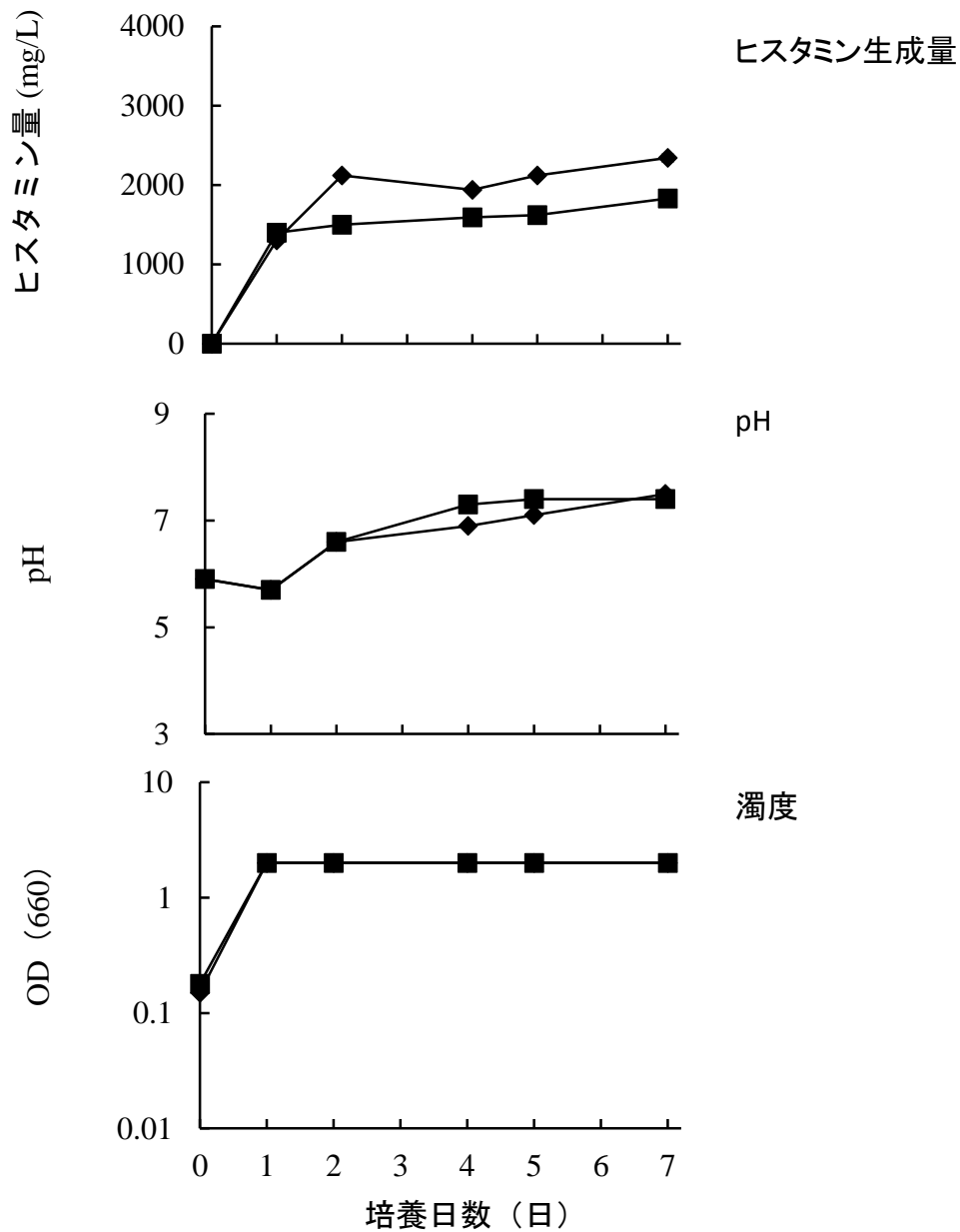


Fig. 3-12. コーン油、オリーブ油の添加（1%濃度）が TYH1 株のヒスタミン生成、pH、増殖に及ぼす影響
 コーン油 (◆) ; オリーブ油 (■)
 平均値 ± SD (n=3)

第 10 項 ヒスタミン生成菌の増殖とヒスタミンの蓄積を抑制する

有機酸の最小増殖阻止濃度

山本ら⁷⁵⁾は、クエン酸は腐敗菌に対する抗菌作用 (pH 5) が弱いとしている。しかしながら、松田ら⁷⁶⁾は、クエン酸は一部の乳酸菌に対して抗菌作用 (pH 5) を示すとしている。一方、上井ら⁶⁷⁾は、ギ酸、酢酸はヒスタミン生成菌、*Photobacterium phosphoreum*, *P. damsela* に対して高い抗菌力 (pH 5) を示すが、クエン酸は抗菌力 (pH 5) を示さないとしている。これらのクエン酸の異なる抗菌作用は、有機酸の抗菌作用がその種類に固有で微生物の種類により抗菌効果が異なる⁷⁶⁾ことを示している。

本研究の結果、TYH1 株の増殖 (発育) とヒスタミンの蓄積をともに抑制する酢酸、リンゴ酸、クエン酸、乳酸の最小増殖阻止濃度については、それぞれ 80、> 100、30、> 100 mmol/L であり、クエン酸の最小増殖阻止濃度が最も低かった (Table 3-4)。TYH1 株の増殖については、低濃度の乳酸 (10 mmol/L)、クエン酸 (30 mmol/L) の添加、やや高濃度の酢酸 (80 mmol/L) の添加により抑制された。低濃度の乳酸 (10 mmol/L) を添加した場合、添加した乳酸は TYH1 株によりほぼ完全に資化され、その増殖は乳酸 100 mmol/L を添加しても抑制できなかった。このことにより、pH が急激に上昇してヒスタミンがほとんど生成しなかったと考えられた。一方、低濃度のクエン酸 (30 mmol/L) を添加した場合、培地の pH は、ほとんど変化しなかった。その結果、ヒスタミン量は 150 mg/L 以下に抑制された。また、やや高濃度の酢酸 (80 mmol/L) を添加した場合も、培地の pH は、ほとんど変化しなかった。その結果、ヒスタミンの生成量は 90 mg/L 以下に抑制された。これらの結果から、クエン酸が TYH1 株に対して最も高い抗菌作用 (pH 5) を示すと判断された。したがって、魚味噌中の TYH1 株の制御には、クエン酸 30 mmol/L [終濃度 0.6% (w/w)] 以上の添加が効果的であると考えられた。これらの結果もまた、有機酸の抗菌作用がそれぞれの酸に固有のものである⁷⁶⁾ことを示している。

Table 3-4. ヒスタミンの蓄積と TYH1 株の増殖を抑制する酢酸、リンゴ酸、クエン酸、乳酸の最小増殖阻止濃度（単位：mmol/L）

	最小増殖 阻止濃度	増殖抑制 濃度 ^{※1}	ヒスタミン蓄積 抑制濃度 ^{※2}	資化性
酢酸	80	60	80	+
リンゴ酸	> 100	100	> 100	+
クエン酸	30	30	30	-
乳酸	> 100	> 100	10	+

最小増殖阻止濃度は、ヒスタミンの蓄積を抑制し(< 170 mg/L)、かつTYH1株の増殖を抑制する(OD₆₆₀ < 1)濃度とした。

※1 OD (660) < 1

※2 対照区(有機酸 0 mmol/L添加区)のヒスタミン蓄積量, < 170 mg/L
資化性: +, あり; -, 弱い

第4節 小括

The aim of this Chapter was to investigate the effects of food additives (organic acids, sugars, and edible oils) on histamine production by the halotolerant histamine-producing bacterium, *Staphylococcus epidermidis* TYH1, isolated from fermented fish paste. Strain TYH1 was incubated in LB medium (pH 5.0) containing 0.5% histidine (a possible histamine precursor) and various concentrations of organic acids, sugars, or oils. TYH1 proliferated and produced significant amounts of histamine in media containing 1–10% (w/v) glucose or soybean oil. Histamine production was markedly accelerated in media containing 30 mmol/L acetic acid, 30 mmol/L malic acid, and 10 mmol/L citric acid (>1,500 mg/L). In contrast, histamine accumulation was suppressed by higher concentrations of organic acids in the medium (<170 mg/L). The minimum inhibitory concentrations of acetic, malic, citric, and lactic acids for both histamine accumulation in the medium and proliferation of TYH1 were 80, >100, 30, and >100 mmol/L, respectively. These findings may help improve the quality of fermented products by providing strategies for lowering the amounts of toxic histamine.

第4章 クエン酸添加によるシイラ味噌熟成中のヒスタミン生成抑制挙動の 解明と呈味性への影響

第1節 緒言

魚味噌や魚醤油などの水産発酵食品には、その熟成過程において、ヒスタミン生成菌の作用により遊離ヒスチジンからヒスタミンが多量に蓄積される場合がある^{14,17)}。最近、その対策として、ベントナイトを用いてヒスタミンを吸着して除去する方法¹⁷⁾や微生物の種株である発酵スターターの添加による方法^{17,77)}等が考案されている。このうちベントナイトを用いてヒスタミンを吸着して除去する方法¹⁷⁾は、魚味噌等の粘性が高い水産発酵調味料には適用できない。

第2章では骨を含む小アジの魚体全体を原料とした小アジ味噌の開発中にヒスタミンの蓄積を確認したが、クエン酸処理による骨等の軟化を検討した際に、終濃度1.6% (w/w) クエン酸の添加が同時にヒスタミンの生成抑制に効果がある傾向が認められた。そこで、第3章において小アジ味噌(塩分約10%)からヒスタミン生成菌を単離・同定・命名(*Staphylococcus epidermidis* TYH1株)し、TYH1株によるヒスタミン生成に及ぼす有機酸等の添加による影響を詳細に調べた。その結果、ヒスタミンの生成は、所定濃度の有機酸の添加により抑制された。ヒスタミンの生成抑制効果はクエン酸が最も高く、クエン酸濃度30 mmol/L [0.6% (w/v)]の培地とすることにより、TYH1株の増殖とヒスタミンの生成をそれぞれ、OD₆₆₀<1、170 mg/L以下に抑制した。

本章では、魚味噌熟成中のヒスタミン蓄積リスクの低減を目的として、低利用魚を用いたシイラ味噌を試醸し、クエン酸添加によるヒスタミン蓄積抑制効果の実証試験を行った。なお、シイラはpHが低く、ヒスタミンが生成されやすい。このため、本章では魚味噌の原料としてシイラを用いた。一方、シイラ味噌仕込み時のクエン酸添加は、シイラ味噌の味や風味に酸味の影響を与えることが考えられる。酸味の強い食品を摂食した場合、舌に受ける強烈な酸味、いわゆる酢カドを感じることもあり、この刺激が強くなるとその食品を摂食すること自体、不快に感じることもある⁷⁸⁾。反対に、すし酢の

ように酢に塩を添加することにより酸味を抑制することが知られる。これは、味の相互作用による抑制効果であり、種類の異なる呈味物質の比率を変えて味わうとき、一方または両方の味が抑制されて弱められる現象である⁷⁹⁾。そこで、本章では、クエン酸の添加がシイラ味噌の呈味成分と呈味性に及ぼす影響についても検討を行った。

第2節 実験材料および方法

第1項 原材料

原料は、富山県沿岸の定置網に混獲された小型（尾又長約 57 cm）のシイラ *Coryphaena hippurus* を-25℃で凍結保存し、供試時に常温で解凍して用いた。副原料の麴は、原料をたんぱく質が主成分である魚肉としたため、プロテアーゼ活性の高い *Aspergillus sojae*⁸⁾で製麴された米麴（秋田今野商店、秋田）を用いた。

第2項 シイラ味噌の製造方法および試験区

シイラの落し身を3~4等分に切断後、チョッパー（プレート口径3 mm）を用いてミンチにした。このミンチ7 kgに対し、食塩1 kg（終濃度10%）、米麴2 kg（終濃度20%）をそれぞれ加え、よく攪拌した。この混合ミンチにヒスタミン生成菌株として、小アジ味噌（塩分10%）から単離した *Staphylococcus epidermidis* TYH1 株を10⁶ cfu/gとなるよう接種した。この混合ミンチ10 kgに対し60 gのクエン酸を加え、よく攪拌して終濃度0.6%（w/w）とした（第3章で明らかとした最小増殖阻止濃度）。また、クエン酸の添加時期は、仕込み時（0日）の他に、仕込み後10、20、30日後にそれぞれ添加時期を遅らせた4試験区（以下、0、10、20、30日目添加区と略）およびクエン酸無添加区（以下、対照区と略）の合計5試験区を設定し、クエン酸の添加時期がヒスタミン生成に与える影響を検討した。各試験区の混合ミンチはふた付きのプラスチック容器に詰め、表面をポリ塩化ビニリデンフィルム（旭化成工業、東京）で覆い、30℃に設定した恒温庫内において120日間熟成させた。

第3項 生菌数測定

一般生菌数は、標準寒天培地（日水製薬、東京）を用い、平板塗抹法³⁴⁾により35℃で2日間培養後、コロニー数を計数して求めた。好塩菌数は、マリンアガー（日本ベクトン・ディッキンソン、東京）を用いた平板培地（食塩濃度2%）により20℃で2週間培養後、コロニー数を計数して求めた^{17,80)}。また、ヒスタミン生成菌数は、Satomiらの方法⁶⁸⁾に準じ算出した。すなわち、ヒスチジンプロス（食塩濃度10%）を用いて24 well型マイクロプレート（Orange Scientific、EU）に3 wellずつ10段階まで段階希釈（1段は10倍希釈）したプレートを30℃で3週間培養し、wellの濁りおよびヒスタミン生成の有無から最確数（MPN）法によりヒスタミン生成菌数を算出した。

第4項 化学成分分析

(1) pH

第2章と同様の方法で測定した。

(2) ヒスタミン量

第2章と同様の方法で定量した。

(3) 有機酸組成

第2章と同様の方法で測定した。

(4) 遊離アミノ酸組成

第2章と同様の方法で測定した。

第5項 呈味性評価

シイラ味噌の呈味性は、味覚センサー装置（TS-5000Z、インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川）を用いて評価した。すなわち、食品の測定に用いられる5本の味覚センサーAAE〔旨味（先味）、旨味コク（後味）〕、CT0（塩味）、CA0（酸味）、C00〔苦味雑味（先味）、苦味（後味）〕、AE1〔渋味刺激（先味）、渋味（後味）〕の電位

出力応答を測定することで評価した。

(1) 測定手順

測定手順は、中村ら⁸¹⁾に準じた。すなわち、まず、センサー部を無味として取り扱う基準液 (30 mmol/L 塩化カリウム+0.3 mmol/L 酒石酸) を用いて洗浄し、膜の安定化を図った。次に、基準電位「 V_r 」、サンプルの電位「 V_s 」の順で測定した。その後、基準液を用いて共洗い後、再度、基準液中で基準電位 V_r' を測定した。本研究では、「 $V_s - V_r$ 」の差を先味の総合的な味覚として定義し、また、「 $V_r' - V_r$ 」の差を後味の持続性のある味覚として定義した。

(2) 測定サンプルの調製

測定サンプルの調製は、シイラ味噌 20 g をカップに秤量し、80°Cの純水で10倍に希釈して1分間攪拌した。その後、3,000 rpm で10分間遠心分離し、油分を油吸い取りシートで取り除き、水溶液をろ紙でろ過して測定試料とした。測定は、同一試料に対して3回行い、得られたセンサー出力値の平均を各試料の出力値とした。

第6項 試料のサンプリング方法

試料のサンプリングは、各試験区のシイラ味噌を採取前によく攪拌してから行った。サンプリングの時期は、仕込み直後と仕込み後 5、15、25、35、70、90、120 日目に経時的に行った。生菌数、成分分析の試料は各試験区の小アジ味噌をランダムに3箇所から採取した ($n = 3$)。

第7項 データ処理および統計解析

成分分析値は、試験区間の差を比較検討するため、統計解析アドインソフト (エクセル統計 2010、株式会社社会情報サービス、東京) を用い、一元配置の分散分析 (ANOVA) を行った。試験区間の有意差は、Tukey の多重比較検定により求めた。結果は、 $\text{平均値} \pm \text{SD}$ で示した。

第3節 結果および考察

第1項 シイラ味噌熟成中の pH の変化

シイラ味噌熟成中の pH の経時変化を Fig. 4-1 に示した。対照区では、熟成開始時の pH 5.7 から熟成 35 日目まで急激に低下して pH 4.7 となり、その後 90 日目までやや上昇傾向を示したが 120 日目まで変化は小さかった。一方、クエン酸添加区では 0 日目添加区の熟成開始時は pH 5.1 となり対照区と比べて低く、熟成中の変化も小さく pH 5.1~4.8 の範囲で推移し、120 日目の熟成終了時には pH 4.8 となった。また、10、20、30 日目添加区では、熟成開始時の pH 5.7 からクエン酸添加時の pH 4.9、4.8、4.5 までそれぞれ急激に低下し、その後の変化は小さかった。

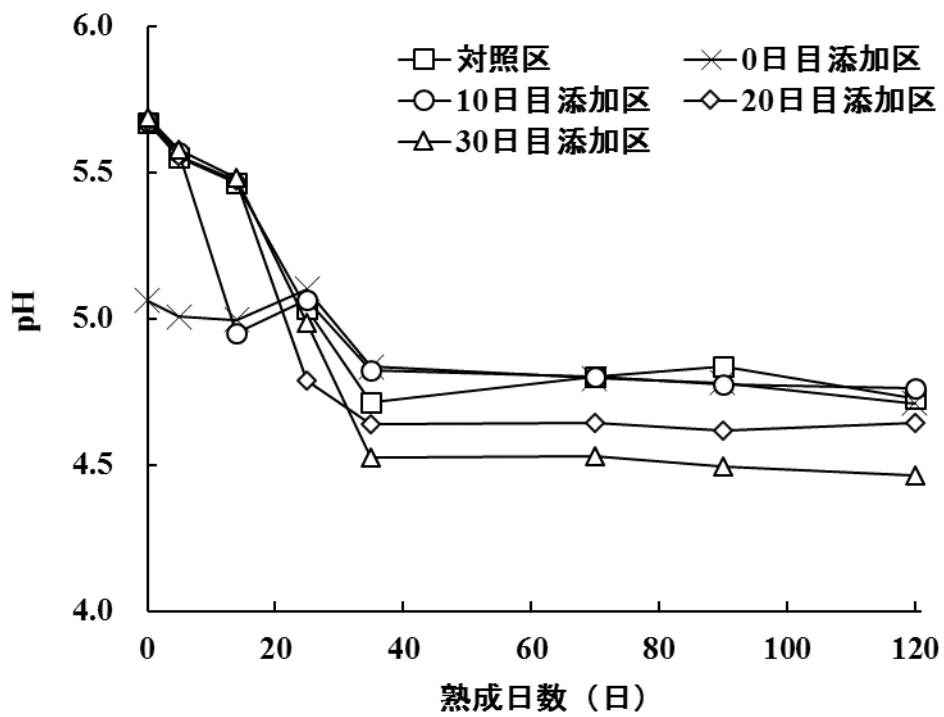


Fig. 4-1. シイラ味増熟成中の pH の変化
(n=3、平均値 ± SD)

第2項 シイラ味噌熟成中の生菌数の変化

(1) 一般生菌数の変化

シイラ味噌熟成中の一般生菌数の経時変化を Fig. 4-2 に示した。熟成開始時の一般生菌数は、対照区、クエン酸添加区とも 10^8 cfu/g で大差はなかった。熟成 25 日目まで全ての試験区で 10^5 cfu/g まで顕著な減少傾向を示し、その後は 120 日目まで変化は小さかった。対照区の変化は、Taira ら¹⁶⁾や Fukui ら⁸⁰⁾の麴を添加した魚醤油発酵中の細菌叢をクローンライブラリー法により解析した際の一般生菌数の変化に類似していることから、*Bacillus* 属を反映していることが推察された。

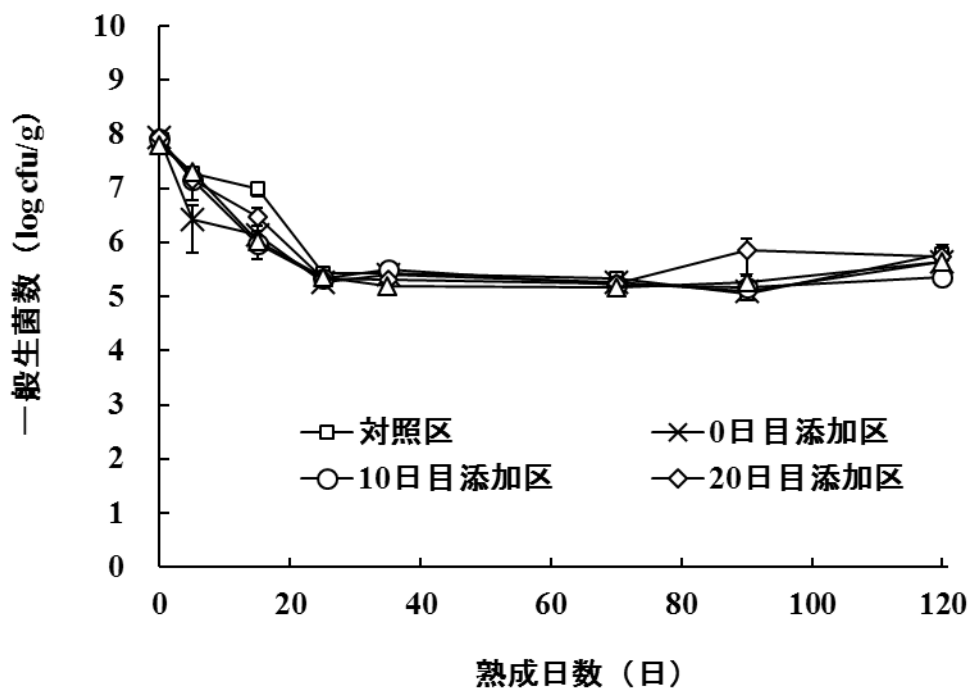


Fig. 4-2. シイラ味噌熟成中の一般生菌数の変化
(n=3、平均値 ± SD)

(2) 好塩菌数の変化

シイラ味噌熟成中の好塩菌数の経時変化を Fig.4-3 に示した。熟成開始時の好塩菌数は、対照区、クエン酸添加区とも 10^8 cfu/g で大差はなかった。クエン酸添加区では、クエン酸の添加後に顕著な減少傾向を示した後、120 日目の 10^5 cfu/g まで減少した。一方、対照区では熟成 15 日目まで 10^7 cfu/g まで減少し、その後、熟成 35 日目の 10^8 cfu/g まで増加傾向を示した後、再び減少傾向を示し 120 日目の 10^6 cfu/g まで減少した。対照区的好塩菌数の変化は、Taira ら¹⁶⁾や Fukui ら⁸⁰⁾の麴を添加した魚醤油熟成中の好塩性乳酸菌の変化に類似していた。このことから本研究のシイラ味噌の熟成は、TYH1 株の添加による影響はほとんどないと考えられた。また、対照区では、熟成初期（仕込み後 15~35 日）に好塩菌数が増加傾向を示したが、この期間に pH の急激な低下を示したことから、乳酸菌等が有機酸を生成したことが推測された。一方、クエン酸添加区では、クエン酸の添加後に pH が急激に低下するとともに、好塩菌数が減少傾向を示し、70 日目以降、好塩菌数の変化がほとんど認められなくなったことから、好塩菌の活動や増殖がクエン酸添加により抑制されたと考えられた。これらの結果から対照区とクエン酸添加区との間で好塩菌数の変化に明確な差が生じたと考えられた。この好塩菌数の変化は、Fukui ら⁸⁰⁾が魚醤油の細菌叢をクローンライブラリー法により解析した際の変化とよく一致していることから、熟成 90 日目までは好塩菌数を、120 日目の値 (10^5 cfu/g) は *Bacillus* 属などをそれぞれ反映していることが推察された。また、Fukui ら⁸⁰⁾はマリンアガー培地（食塩濃度 2.5%）で培養した好塩菌数が最も魚醤油の細菌叢を反映するとしていることから、本研究で測定した好塩菌数（食塩濃度 2%）はシイラ味噌中の細菌数を反映したものと推察された。

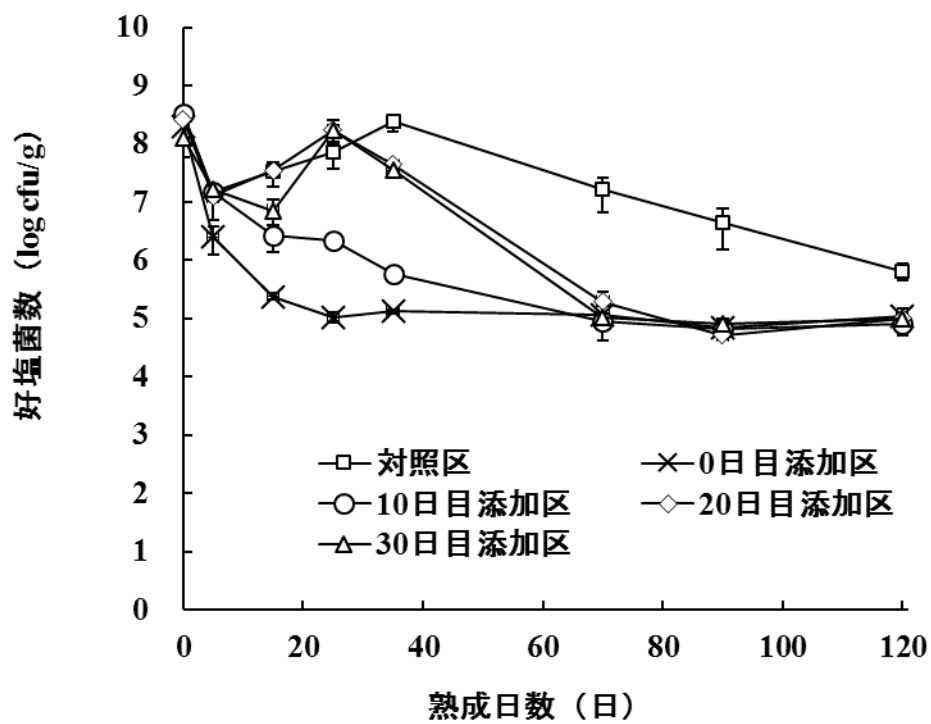


Fig. 4-3. シイラ味噌熟成中の好塩菌数の変化
(n=3、平均値 ± SD)

(3) ヒスタミン生成菌数の変化

シイラ味噌熟成中のヒスタミン生成菌数の経時変化を Fig. 4-4 に示した。ヒスタミン生成菌数は、仕込み直後の $10^5\sim 10^6$ MPN/g から、熟成 5 日目までは、クエン酸 0 日目添加区では 10^4 MPN/g まで減少したが、その他の試験区では $10^5\sim 10^6$ MPN/g を維持した。熟成 15 日目では、クエン酸 0 日目添加区は 10^2 MPN/g まで減少したが、その他の試験区は $10^5\sim 10^6$ MPN/g を維持した。熟成 35 日目では、対照区は 10^6 MPN/g を維持したが、クエン酸 0 日目添加区で検出限界 (30MPN/g) 以下、10 日目添加区で 10^2 MPN/g、20、30 日目添加区で $10^4\sim 10^5$ MPN/g までそれぞれ減少した。その後、熟成 70 日目では、対照区、クエン酸添加区ともに 10^2 MPN/g 以下まで減少し、120 日目まで大きく変化しなかった。ヒスタミン生成菌数の変化は、クエン酸の添加時期に関わらず、クエン酸添加後に菌数が減少傾向を示しており、添加時期が早いほど菌数の減少も早い時期に認められた。このようにクエン酸添加によりヒスタミン生成菌数は急激に減少し、好塩菌数の変化と比べて明確な差が認められた。本研究においてシイラ味噌に接種した TYH1 株は耐塩性であるため⁷⁰⁾、塩分が 15% を超える魚醤油等の高塩分下では増殖が困難であるが、魚味噌のように塩分のやや低い (10% 前後) 環境下では増殖する可能性があり、その増殖抑制に終濃度 0.6% (w/w) のクエン酸添加は効果的であると考えられた。

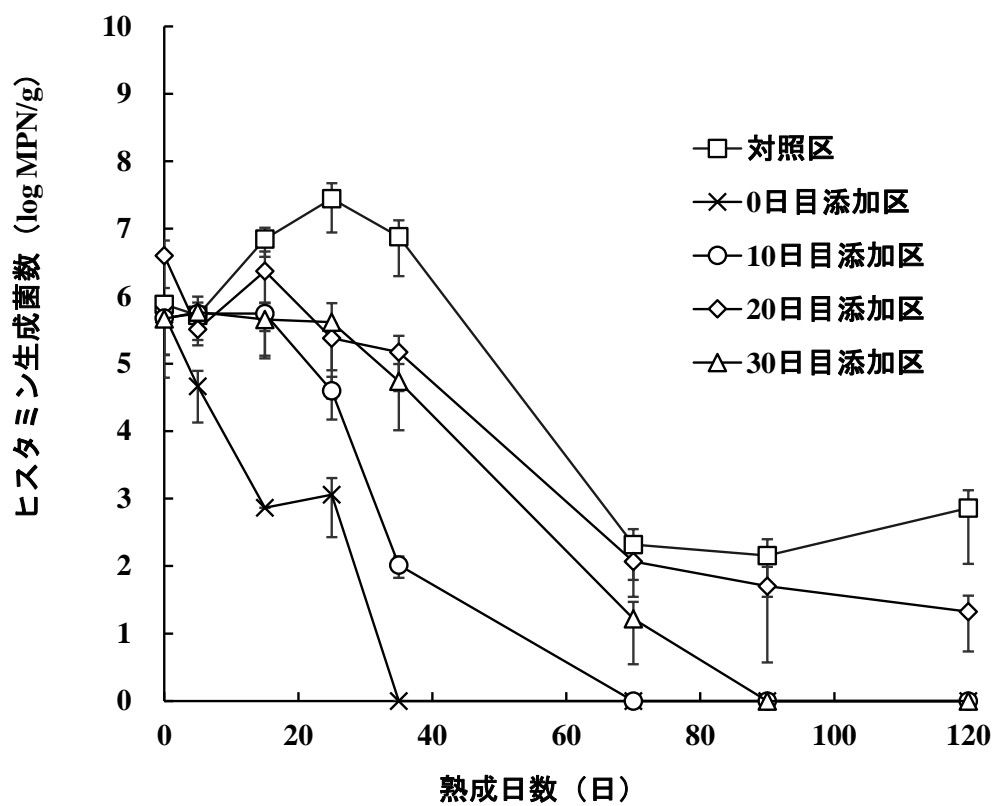


Fig. 4-4. シイラ味噌熟成中のヒスタミン生成菌数の変化
(n=3, 平均値 ± SD)

第3項 シイラ味噌熟成中のヒスタミン量の変化

シイラ味噌熟成中のヒスタミン量の経時変化を Fig. 4-5 に示した。対照区では熟成 25 日目までに約 900 mg/L まで急激に増加し、熟成 70 日目には 2,000 mg/L 以上に達した。一方、0 日目添加区では、熟成終了の 120 日目まで 30 mg/L 以下、10 日目添加区では 250 mg/L 以下に抑制され、クエン酸添加によるヒスタミン生成抑制効果が強く示唆された。しかし、20 日目添加区、30 日目添加区ではクエン酸添加前にヒスタミンが生成し、120 日目までに 500 mg/L 以上蓄積した。これらのことから、一度蓄積したヒスタミンはほとんど減少しないため、クエン酸の添加時期が遅くなるとヒスタミン蓄積抑制効果は低くなると考えられた。ヒスタミン生成抑制効果は、前項で示したヒスタミン生成菌数の変化によく反映されており、ヒスタミン生成菌数が減少した後はヒスタミンの生成量が抑制されていた。このため、ヒスタミンの蓄積を抑制するにはヒスタミン生成菌が増殖する以前にクエン酸を添加することが必要不可欠で、その効果は添加時期が早いほど高いと考えられた。魚醤油などの水産発酵食品にはヒスタミンが高濃度に蓄積される場合があり、ヒスタミン生成菌の作用により遊離ヒスチジンからヒスタミンが生成される¹⁴⁾¹⁷⁾。対照区では、熟成初期にヒスタミンが急増したが、この原因として、シイラ味噌中に存在したヒスタミン生成菌が熟成初期に急激に増殖した結果、多量のヒスタミンを生成したと考えられた。一方、クエン酸添加区では、添加したクエン酸によりヒスタミン生成菌の増殖が抑制された結果、ヒスタミンの蓄積が抑制されたと考えられた。この増殖抑制の要因は、クエン酸（弱酸）の抗菌作用によるもので、弱酸は非解離型分子の割合が高く、この分子は細胞膜への透過性が高いため細胞に障害を与えることで抗菌性を示すと考えられている⁸²⁾。一方、有機酸の抗菌作用はそれぞれの有機酸の固有の性質により決定されると考えられており、クエン酸は数種の *Lactobacillus* 属に対し特異的に抗菌性を示す⁷⁶⁾。有機酸（弱酸）が微生物の種類に応じて異なる抗菌作用を示す要因については今後の研究課題であり、詳細に調べる必要がある。他方、ヒスタミン生成菌は pH 4.4~6.5 程度の酸性条件下においてヒスタミンを多量に生成するため⁵²⁾、低濃度のクエン酸の添加は、逆にヒスタミンの生成を促進することも考えられる⁵³⁾。

このため、クエン酸の添加濃度については熟成中の優占菌種、それらのクエン酸耐性などを十分に考慮して慎重に検討する必要がある。本研究においては、シイラ味噌に添加したクエン酸終濃度 0.6% (w/w) は、少なくとも TYH1 株の増殖を抑制し、ヒスタミンの蓄積を抑制することが示唆された。また、クエン酸の添加時期は、TYH1 株が増殖してヒスタミンが生成する以前の仕込み時が最も効果的であると考えられた。

ヒスタミンの蓄積は魚味噌のみならず水産発酵食品に共通する課題であり、その抑制方法が模索されているが^{17,77)}、未だ確立されていない。本研究で実証されたクエン酸添加によるヒスタミン蓄積抑制方法は、仕込み時に所定量のクエン酸を添加するだけの非常に簡便な方法である。今後、ヒスタミン生成菌の詳細な特性^{17,54)}について、菌種を拡げて研究が進み、魚醤油をはじめとした様々な水産発酵食品に応用されることが期待される。

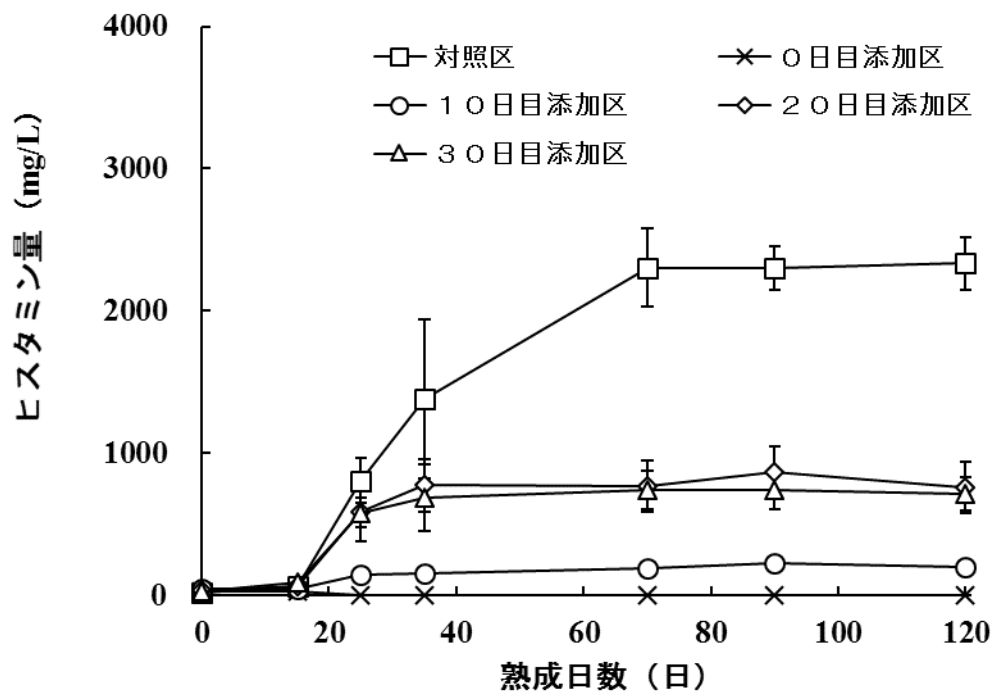


Fig. 4-5. シイラ味噌熟成中のヒスタミン量の変化
(n = 3, 平均値 ± SD)

第4項 シイラ味噌中の有機酸組成

シイラ味噌（熟成 120 日目）の有機酸組成を Table 4-1 に示した。有機酸総量については、クエン酸添加区は、0、10、20 日目添加区では対照区と比べ有意に ($p < 0.01$) 少なかったが、30 日目添加区では対照区と比べ有意に ($p < 0.05$) 多かった。クエン酸量については、対照区では検出されなかった。クエン酸添加区のクエン酸量は、仕込み直後で約 550 mg/100 g（添加量の約 9 割）であったが、熟成 120 日目では、0 日目添加区を除いて、クエン酸の添加時期が遅い添加区ほど減少量が有意に ($p < 0.01$) 大きかった。リンゴ酸量については、対照区では検出されなかったが、クエン酸添加区では遅い添加区ほど有意に ($p < 0.01$) 少なく、クエン酸と同様の傾向を示した。乳酸量については、対照区に含まれる主要な有機酸であり 1,500 mg/100 g 以上生成した。しかし、クエン酸添加区ではクエン酸の添加時期が早い添加区ほど、乳酸の生成量が有意に ($p < 0.01$) 少なかった。酢酸量については、乳酸量と同様の傾向を示し、対照区では 150 mg/100 g 以上生成したが、クエン酸添加区ではクエン酸の添加時期が早い添加区ほど酢酸の生成量が有意に ($p < 0.01$) 少なかった。クエン酸添加区のクエン酸量が減少した要因については、クエン酸を乳酸と酢酸に分解する乳酸菌株⁸³⁾により添加したクエン酸の一部が資化されたと考えられ、添加時期が遅い添加区ほど添加前に資化されるクエン酸量が多くなり減少量が大きくなったことが推察された。このことは、対照区の好塩菌数が熟成 35 日目まで増加傾向にあることから支持される。また、クエン酸添加区のリンゴ酸量の減少要因についても、リンゴ酸を乳酸に分解⁸⁴⁾する乳酸菌によるものと推察された。クエン酸添加区の乳酸と酢酸の生成量が対照区と比べ有意に ($p < 0.01$) 少なかった要因としては、クエン酸添加後の好塩菌数が減少したことから、その代謝産物である乳酸や酢酸の生成量が減少したためと推察される。ピログルタミン酸はグルタミン酸またはグルタミンから非酵素的に生成される呈味性のない有機酸であり⁴²⁾、熟成中に蓄積する^{45, 85)}が、ピログルタミン酸量は各試験区間で大差は認められなかった。

	対照区	クエン酸添加区(添加時期)			ANOVA(P)	
		0日目	10日目	20日目		30日目
クエン酸	N.D. ^e	480 ± 3 ^c	543 ± 4 ^a	492 ± 5 ^b	353 ± 1 ^d	< 0.01
リンゴ酸	N.D. ^d	38 ± 1 ^a	14 ± 2 ^b	9 ± 0 ^c	N.D. ^d	< 0.01
コハク酸	13 ± 1 ^c	15 ± 1 ^{bc}	16 ± 1 ^b	26 ± 1 ^a	10 ± 1 ^d	< 0.01
乳酸	1,569 ± 10 ^a	320 ± 2 ^e	496 ± 6 ^d	1,055 ± 1 ^c	1,295 ± 2 ^b	< 0.01
ギ酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	> 0.05
酢酸	152 ± 5 ^a	37 ± 1 ^c	52 ± 7 ^d	91 ± 2 ^c	135 ± 2 ^b	< 0.01
ピログルタミン酸	439 ± 18 ^{ab}	348 ± 2 ^b	420 ± 5 ^a	435 ± 3 ^a	431 ± 4 ^a	< 0.01
合計	2,173 ± 33 ^b	1,238 ± 6 ^c	1,541 ± 11 ^d	2,108 ± 3 ^c	2,224 ± 5 ^a	< 0.01

同一行の異なるアルファベット間には、Tukey法により試験区間に有意差があることを示す(平均値 ± SD、n = 3)。

第5項 シイラ味噌中の遊離アミノ酸組成

シイラ味噌中（熟成 120 日目）の遊離アミノ酸組成を Table 4-2 に示した。旨味を呈するグルタミン酸については、対照区では 980 mg/100 g 以上生成したが、クエン酸添加区では 0、10 日目添加区が対照区と比較して有意に ($p < 0.01$) 少なく、20 日目添加区では対照区と大差がなかったが、30 日目添加区では逆に有意に ($p < 0.01$) 多くなり、クエン酸の添加時期が遅いほどグルタミン酸量が多くなる傾向が認められた。甘味を中心に呈するグリシン、アラニンについても、グルタミン酸と同様の傾向を示し、クエン酸の添加時期が遅いほど多くなる傾向を示したが、30 日目添加区でも有意に ($p < 0.05$) 少なかった。苦味を中心に呈するバリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシンについては、対照区と比較してクエン酸 0、10 日目添加区が有意に ($p < 0.01$) 少なかった。また、遊離アミノ酸総量については、クエン酸 0、10 日目添加区が有意に ($p < 0.01$) 少なかったが、対照区の 9 割以上 (7,000 mg/100 g 以上) 生成していた。したがって第 2 章で示した小アジ味噌〔終濃度 1.6% (w/w) のクエン酸を添加〕の場合と同様に、終濃度 0.6% (w/w) のクエン酸を添加してもプロテアーゼの活性が著しく低下し、アミノ酸の生成量が著しく減少することはないと判断された。一方、アスパラギン酸、アルギニンについては、対照区と比べてクエン酸添加区が有意に ($p < 0.05$) 多かった。この要因としては、醤油中にはアスパラギン酸を分解しアラニンを生成する菌株やアルギニンを分解しオルニチン、シトルリンを生成する菌株が存在する⁸⁶⁻⁸⁸⁾ことから、クエン酸添加区では好塩菌等の増殖が抑制され、これらの有機酸の代謝が抑制されたことが推察される。藤井ら⁴⁶⁾は、イカ塩辛熟成中のアミノ酸生成に関して微生物の関与は少ないことを報告しているが、本研究の結果からクエン酸の添加により微生物の増殖を抑制することが原因で、アミノ酸組成が変化する可能性が示唆された。酸味成分アスパラギン酸の消失と甘味成分アラニンの生成は、呈味をマイルドにする⁸⁸⁾ことから、クエン酸添加区は呈味性に影響を及ぼす可能性があると考えられた。さらに、ヒスチジン量については、クエン酸添加区で有意に ($p < 0.01$) 多く、クエン酸の添加時期が早い程ヒスチジン含量が多いことから、ヒスタミン生成菌の増殖抑制効果によく反映されていた。

Table 4-2. シイラ味噌中の遊離アミノ酸組成(熟成120日目) (mg/100 g)

	クエン酸添加区(添加時期)				ANOVA(P)	
	対照区	0日目	10日目	20日目		30日目
タウリン	57 ± 3 ^a	55 ± 3 ^a	54 ± 5 ^a	53 ± 5 ^{ab}	43 ± 4 ^b	< 0.05
アスパラギン酸	374 ± 4 ^d	600 ± 10 ^a	555 ± 5 ^b	322 ± 8 ^e	406 ± 10 ^c	< 0.01
スレオニン	353 ± 13	338 ± 8	330 ± 10	339 ± 10	334 ± 3	> 0.05
セリン	367 ± 3 ^a	361 ± 1 ^a	357 ± 6 ^{ab}	345 ± 5 ^b	325 ± 7 ^c	< 0.01
グルタミン酸	984 ± 16 ^b	920 ± 24 ^c	900 ± 12 ^c	966 ± 11 ^b	1,048 ± 21 ^a	< 0.01
グリシン	215 ± 5 ^a	190 ± 8 ^{cc}	188 ± 1 ^d	197 ± 3 ^{bc}	205 ± 5 ^b	< 0.01
アラニン	688 ± 7 ^a	475 ± 11 ^c	473 ± 5 ^c	681 ± 3 ^a	621 ± 10 ^b	< 0.01
シトルリン	44 ± 1 ^a	25 ± 5 ^b	4 ± 3 ^c	22 ± 3 ^{bc}	26 ± 2 ^b	< 0.01
バリン	517 ± 2 ^a	472 ± 15 ^c	463 ± 4 ^c	493 ± 6 ^b	496 ± 6 ^b	< 0.01
メチオニン	271 ± 7 ^a	242 ± 12 ^b	233 ± 3 ^b	259 ± 11 ^a	259 ± 10 ^a	< 0.01
イソロイシン	561 ± 9 ^a	478 ± 12 ^c	476 ± 12 ^c	521 ± 3 ^{bc}	520 ± 14 ^b	< 0.01
ロイシン	875 ± 1 ^a	730 ± 11 ^c	725 ± 15 ^c	814 ± 3 ^{bc}	804 ± 3 ^b	< 0.01
チロシン	87 ± 6 ^c	129 ± 9 ^a	129 ± 4 ^a	109 ± 3 ^{bc}	103 ± 6 ^b	< 0.01
フェニルアラニン	392 ± 2 ^b	387 ± 7 ^b	372 ± 2 ^c	405 ± 4 ^a	402 ± 9 ^a	< 0.01
オルニチン	58 ± 10 ^a	N.D. ^d	N.D. ^d	15 ± 1 ^c	43 ± 3 ^b	< 0.01
リジン	816 ± 5 ^a	767 ± 7 ^d	731 ± 7 ^e	785 ± 5 ^c	797 ± 2 ^b	< 0.01
ヒスチジン	215 ± 4 ^d	352 ± 5 ^a	319 ± 6 ^b	321 ± 7 ^b	296 ± 12 ^c	< 0.01
アルギニン	471 ± 1 ^c	608 ± 15 ^a	571 ± 3 ^b	580 ± 7 ^b	572 ± 8 ^b	< 0.01
プロリン	237 ± 6 ^b	236 ± 2 ^b	231 ± 7 ^b	241 ± 6 ^{ab}	249 ± 8 ^a	< 0.01
合計	7,582 ± 9 ^a	7,364 ± 15 ^c	7,112 ± 38 ^d	7,467 ± 67 ^b	7,549 ± 86 ^{ab}	< 0.01

同一行の異なるアルファベット間は、Tukey法により試験区間に有意差があることを示す(平均値 ± SD, n = 3)。

N.D. : not detected

第6項 味覚センサーによるシイラ味噌の呈味性評価

第5項の結果から、クエン酸添加区はクエン酸の添加と熟成中のアミノ酸の分解(変換)が抑制されること等により、酸味が強まる可能性があると考えられた。そこで、多くの食品の味の評価に用いられている味覚センサー装置⁸⁹⁻⁹²⁾を用い、シイラ味噌(熟成120日目)の対照区を基準値として各試験区を比較した(Fig. 4-6)。その結果、酸味については、30日目添加区では対照区と比べ強かったが、0、10日目添加区では弱かった。渋味刺激については、20、30日目添加区で強かった。旨味については、0、10日目添加区では対照区より強く、30日目添加区では弱かった。塩味については、30日目添加区が顕著に弱かった。苦味雑味、苦味、渋味については、対照区と大差がなかった。旨味コクについては、対照区と比べクエン酸添加区が弱かった。酸味について対照区と比べ30日目添加区が強くなり、0、10日目添加区が弱くなった要因としては、対照区では好塩菌等の増殖により、その代謝産物である乳酸や酢酸等が多く生成したのに対し、クエン酸添加区ではクエン酸を添加したものの、好塩菌等の増殖が抑制され、その代謝産物である乳酸や酢酸等の生成量が少なくなり、これらの総量が30日目添加区では対照区と比べ有意に($p < 0.05$)多くなり、0、10日目添加区では対照区と比べ有意に($p < 0.01$)少なくなったためと考えられた。旨味について対照区と比べ0、10日目添加区が強くなり、30日目添加区が弱くなった要因としては、旨味センサーはpHに応答し、pHが下がると旨味の値も下がる⁹³⁾ため、pHの値が低い30日目添加区の評価が低くなった可能性がある。塩味については、浜島ら⁹⁴⁾が10~20%食塩溶液に対して0.3%以上の酢酸添加により塩味は減少するとしており、一般に、主味(一次刺激)に対して添加された味成分(二次刺激)は主味を弱める効果を示す⁹⁵⁾。味覚センサーは「味物質」ではなく「味」そのものを出力情報に持つセンサーであり、こうした味質間の非線形相互作用も拾うことが可能である。⁹¹⁾ 塩分約10%の魚味噌に対して30日目添加区では、添加したクエン酸と生成した乳酸や酢酸等の有機酸含量の合計が対照区と比べて有意に($p < 0.05$)多かったことから、塩味(主味)を弱めた可能性がある。旨味コクは、旨味センサーによる後味を評価した結果であり、先にも述べたが、このセンサーはpHに応答す

るため pH に影響された可能性がある。

有機酸総量（第 4 項の結果）については、クエン酸 30 日目添加区が対照区と比べて有意に ($p < 0.05$) 多かった。また、遊離アミノ酸組成（第 5 項の結果）から判断すると、クエン酸添加区は、クエン酸の添加と熟成中のアミノ酸の分解（変換）が抑制されること等により酸味が強まる可能性があると考えられた。味覚センサーによる呈味性評価の結果から、仕込み後、早い時期（0、10 日目添加区）にクエン酸を添加すれば、対照区と比べて旨味を変化させず、酸味が弱まる傾向が認められた。これらのことから、シイラ味噌の呈味の観点からもクエン酸の添加時期は早い方が好ましいと考えられた。仕込み後、ヒスタミンが生成・蓄積しない早い期間内において、クエン酸の添加時期を調整することにより、シイラ味噌の呈味の調節も可能であると考えられた。

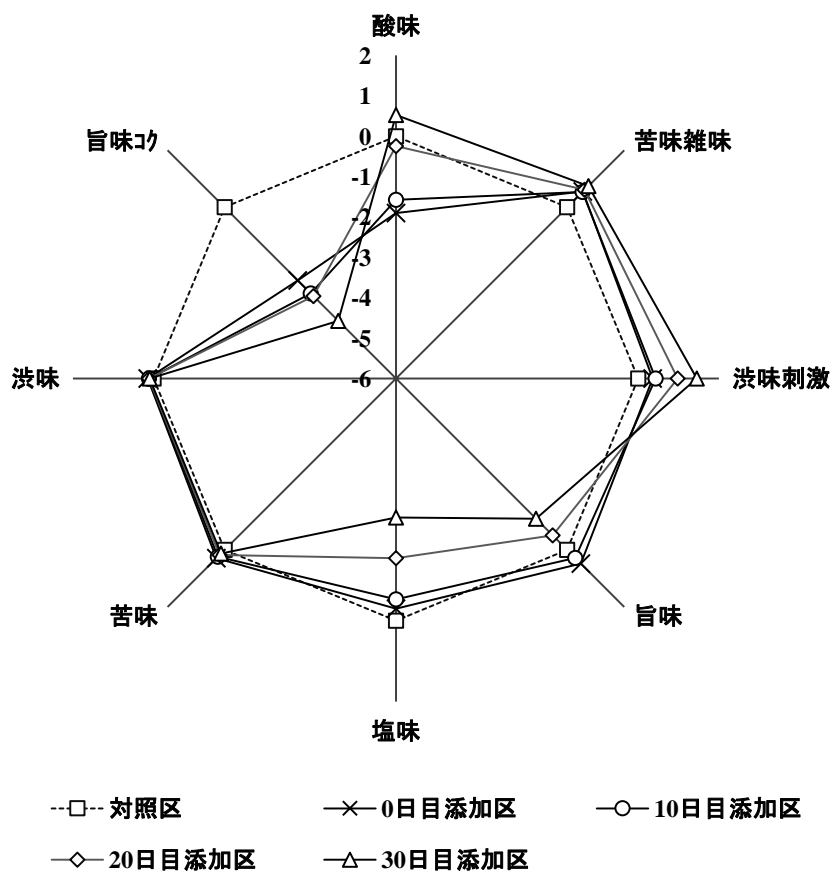


Fig. 4-6. 味覚センサーを用いたシイラ味噌（熟成 120 日目）の味覚評価

第 4 節 小括

The aim of this Chapter was to investigate the effect of citric acid addition on histamine accumulation and the taste of the resulting fish paste. In addition, this study investigated the optimal time for citric acid addition with respect to both suppression of histamine accumulation and effects on the taste of the fish paste produced. Addition of citric acid during the preparation of fish paste (citric acid anhydrous added to obtain a final concentration of 0.6% [w/w]) inhibited both the growth of histamine-producing bacteria and the accumulation of histamine (< 30 mg/L). The earlier the addition of citric acid during processing, the greater was its effectiveness in suppressing histamine accumulation (histamine content was > 400 mg/L, when citric acid was added 20 days after preparation). Furthermore, early addition of citric acid during the fermentation process suppressed accumulation of various products of microbial metabolism, such as lactic acid and citric acid. Therefore, early addition (< 20 days after preparation) of citric acid contributed to the reduction in sourness, which may be attributed to the lower subsequent production of acidic metabolic products by microorganisms, without influencing the umami taste of the fish paste. These results suggest that the useful way to prevent histamine production without altering the taste properties of the fish paste would be the addition of citric acid to the fish paste at a final concentration of 0.6% (w/w), as early as possible during processing.

第5章 低温乾燥法による小アジ塩干品の高品質化

第1節 緒言

遠洋・沖合海域における漁獲規制に伴い沿岸漁業の重要性が再認識され、我が国の沿岸漁業の中核をなす定置網漁法で混獲される雑魚の有効利用は、沿岸漁業資源の効率的利用の面から非常に重要であることを第1章で述べ、低利用魚の魚肉内在酵素を活用した発酵調味料（魚味噌）への有効利用と高品質化について第2～4章で検討した。

低利用魚（小アジ）は、そのサイズが規格外であるため水揚げ価格が著しく低下する。しかしながら、規格外の小アジであっても、品質（呈味成分等）は、鮮度管理を徹底すれば、規格アジと変わらない。また、小アジは規格アジと比べて魚体が小さいため、逆に低温管理が行いやすく（速く冷える）、塩漬、乾燥等の加工処理が短時間で済むメリットがある。そこで本章では、これらの規格外アジの特性に着目し、塩干品に加工して付加価値を高めることによる有効利用を目的とした。

水産物の乾燥は、古くから行われてきた水産加工法の一つであり、今日までに様々な方法が開発されている。伝統的に行われてきた天日乾燥法は、日照があれば大掛かりな装置を必要とせず乾製品の製造が可能であるが、製品の乾燥状態が天候に左右される。このため、今日では天日乾燥法は、一部の地場産業を除いてあまり用いられなくなり、機械乾燥法に移行している⁹⁶⁾。機械乾燥法のうち、熱風乾燥法は、乾燥媒体として常温よりも高温で低湿な空気を製品表面に吹き付けて水分の蒸発を促す方法である。この方法は、表面が急激に乾燥するため、長時間の乾燥は、表面硬化が起こりやすく、内部水分の表面への拡散を阻害し、乾燥速度の低下や、クラックの発生等、品質の低下を招く^{96,97)}。一方、冷風乾燥法は、冷凍機で除湿・冷却した空気を乾燥機庫内に循環させ、製品表面からの水分の蒸発を促す方法である⁹⁸⁾。

水産乾製品の品質については、北海道の「すきみスケトウダラ」や三重県の「ブリの燻製」等、乾燥温度が25℃以上になると色、味、香りなどの品質が低下することが知られている⁹⁷⁾。このため、冷風乾燥法は、水産乾製品の品質向上に有効とされる

⁹⁶⁻⁹⁹⁾が、装置が高価であるため普及の障害となっている。さらに、冷風乾燥機は、熱風乾燥機に比べて乾燥に長時間を要するため、乾燥時間の短縮が課題である⁹⁷⁾。

水産乾製品の品質に及ぼす乾燥温度の影響については、タンパク質の変性、脂質の酸敗、および表面硬化の観点から検討が行われており、低温で乾燥することによりこれらの変質が抑制される⁹⁷⁾が、呈味成分について検討した例¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾は僅かであった。他方、節類や調味乾燥品製造で呈味成分変化については、いくつかの報告例¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾があるものの、製造工程の初期に高温加熱処理が行われるため、呈味成分の変化は、魚肉中の自己消化酵素によるものではなく、煮熟等による成分流出に依存する¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾。

そこで本章では、鮮度の良い低利用魚（小アジ）を原料として、冷風乾燥法により塩干品を製造し、その呈味成分の変化を調べた。また、近年では乾燥度の低い一夜干し（半乾品）の生産が主流となっている^{106, 107)}ことから、冷風乾燥により製造した一夜干しを焙焼した際の呈味成分の変化についても調べた。

第2節 実験材料および方法

第1項 乾燥機

冷風乾燥には、特殊冷風乾燥機テイストモディファイア（KF-1000型、GSK、大阪以下、冷風乾燥機と略）を用いた。塩干品の冷風乾燥は、低温にするほど乾燥効率が低下するため、20~28℃の乾燥温度で行われる⁹⁹⁾。そこで、本研究では、設定温度を20℃として乾燥を行った。熱風乾燥には、サンタリー式通風乾燥機（PS-120S型、清水理化学機器製作所 東京以下、熱風乾燥機と略）を用いた。塩干品の熱風乾燥は、一般に40~50℃程度で行われる⁹⁹⁾ことから、本研究では、設定温度を50℃として乾燥を行った。

第2項 浸漬試料、塩干品および焙焼品の調製方法

(1) 浸漬試料

実験に用いた試料は、富山県沿岸で漁獲直後に船倉内で氷冷された新鮮なマアジ *Trachurus japonicus* のうち平均尾叉長 19 cm の小型のサイズを水揚げ後に選別し、直ちに氷冷（5℃以下）して 100 分以内に実験室へ搬入した。室温 5℃の低温実験室にて内臓を除去して水道水で洗浄した後、腹開きにした。約 10℃に冷却した 10%食塩水に魚体全体を 20 分間浸漬（以下、塩漬と略）した。

(2) 塩干品

塩干品（以下、干物と略）は、塩漬試料の表面水分をペーパータオルで拭取り、冷風乾燥機の棚（390 mm×330 mm）の 1 段に 5 尾ずつ 5 段に載せ、20 時間まで冷風乾燥（以下、冷風乾燥区と略）した。また、同様に熱風乾燥機を用いて 50℃で 20 時間まで熱風乾燥（以下、熱風乾燥区と略）した。両乾燥区で 2、5、8、20 時間後にそれぞれ 3 個体ずつ乾燥機から取り出し、背肉部全体を磨砕した均一な試料（以下、背肉部と略）を成分分析に供した。乾燥中の温度と湿度および重量の測定並びに官能試験に用いた試料についても、同様の処理条件で別途調製した。

(3) 焙焼品

各試験区で 2 時間乾燥させたマアジ（6 尾）を、ガス赤外線グリラーリンナイペット（RGP-43SV、リンナイ、愛知）を用いて、身側を上火で 10 分間焙焼した。

第 3 項 物理化学的性状分析と官能評価

(1) 庫内温度と相対湿度および魚肉内部温度

乾燥機の庫内温度と相対湿度は、温湿度データロガー（TR72-Ui、ティアンドデイ、東京）を用いて、15 秒間隔で測定した。魚肉内部温度は、4 点式デジタルデータログ温度計（MT-309、マザーツール、長野）に熱電対温度センサー（TP-11）を接続し、センサーの先端を魚肉の中心部に頭部側から脊椎骨に沿って挿入して 2 秒間隔で測定した。

(2) 水分

水分は、背肉部を 105 °C常圧加熱乾燥法¹⁰⁸⁾により測定した。

(3) 塩分

塩分は、背肉部をフォルハルト法（湿式法）¹⁰⁹⁾により測定した。

(4) 重量（歩留まり）

マアジ乾燥工程における試料の重量変化は、適宜、乾燥機から取り出し、電子天秤（LP34、ザルトリウス、東京）で測定し、直ちに乾燥機に戻す操作を繰り返した。

(5) 遊離アミノ酸組成分析

遊離アミノ酸の抽出は、除タンパク法¹¹⁰⁾により行った。すなわち、各試料の背肉部約 5g を遠沈管に採取・精秤し、2 倍量の 10%（w/v）トリクロロ酢酸を加え、ポルトロンホモジナイザー（PT10-35、KINEMATICA、SUI）を用いて氷冷下で破碎した。この破碎液をろ紙（5A、110 mm、アドバンテック東洋、東京）でろ過し、ろ液を 10 mol/L KOH で中和・定容した後、メンブランフィルター（DISMIC 25HP045AN、アドバンテック東洋、東京）を用いてさらにろ過して抽出試料とした。この抽出試料を全自動アミノ酸分析機（JLC-500/V2、日本電子、東京）に供して、ニンヒドリン法により遊離アミノ酸を測定した。

(6) 核酸関連化合物

核酸関連化合物は、遊離アミノ酸の抽出溶液の一部を用いて、既報¹¹¹⁾に基づき高速液体クロマトグラフ（LC10A、島津製作所、京都）により測定した。

(7) 官能評価

官能評価の試料は、上記した焙焼品の背肉部を丁寧にほぐして均一にした後、あらかじめ約 10 g を小皿に分け、常温でパネルに供試した。パネルは、訓練された当センター食品研究所に所属する 30～50 歳代のアジ干物を好む職員 13 名（男性 11 名、女性 2 名）とした。評価項目は、色調、香り、食感、味（おいしさ）、後味、苦味、甘味、うま味、総合評価（各項目を総合的に判断した好ましさ）の 9 項目とした。評価方法は、焙焼品（冷風乾燥区と熱風乾燥区の 2 種）のうち「好ましい」方（ただし、苦味、甘味、うま味については、呈味成分含量との関連性を検討するため「強く感じる」方）を選択した人数の合計について、2 点比較法^{112, 113)}により評価を行う分析型官能評価¹¹³⁾

とした。評価結果は χ^2 検定を行った。

(8) 色調の測定

色調の測定は、簡易型分光色差計（NF333、日本電色工業、東京）を用いて $L^*a^*b^*$ 値を測定した。

第4項 データ処理および統計解析

成分分析値は、試験区間の差を比較検討するため、一元配置の分散分析(ANOVA)を行った。有意差が認められた場合は Tukey の方法¹⁴⁾による多重比較検定を行った。

第3節 結果および考察

第1項 乾燥機庫内温度と相対湿度および魚肉内部温度の変化

(1) 庫内温度と相対湿度の変化

乾燥中の乾燥機の庫内温度の経時変化と相対湿度の経時変化を Fig. 5-1 と Fig. 5-2 にそれぞれ示した。冷風乾燥機の庫内温度は、運転終了の 20 時間後まで $20\pm 2^\circ\text{C}$ の範囲内を 7~8 分間隔で規則的に上下変動した。また、冷風乾燥機の庫内相対湿度は、乾燥開始から約 2 時間後まで急激に相対湿度が低下し、その後も徐々に低下する傾向にあった。その際、乾燥開始時の上限値 41%、下限値 38% から乾燥終了時の上限値 30%、下限値 27% まで規則的に増減を繰り返しながら低下した。これら温度と湿度の規則的な変動は、庫内に内蔵された温度センサーによる冷却除湿コイル着霜防止のための加温と、除湿の一時停止による影響と考えられた。一方、熱風乾燥機の庫内温度は、試料を投入した直後の 46°C から約 2 時間でほぼ 50°C に達し、その後は、ほとんど変動しなかった。また、熱風乾燥機の庫内相対湿度は、乾燥開始時の 19% から約 4 時間後の約 5% まで急激に低下し、その後の約 6 時間は約 1% まで緩やかに低下した。

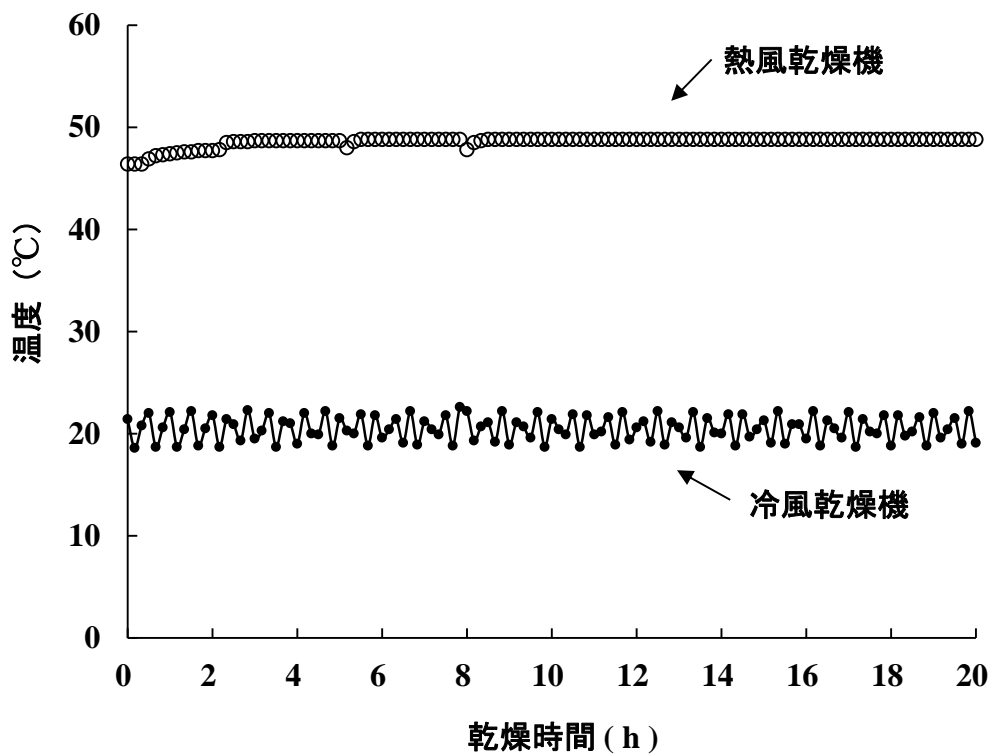


Fig. 5-1. 小アジ乾燥中の乾燥機庫内の温度変化

乾燥に用いた小アジは、室温 5°Cの実験室にて内臓を除去して水道水で洗浄し腹開きにした後、約 10°Cに冷却した 10%食塩水に魚体全体を 20 分間浸漬した。

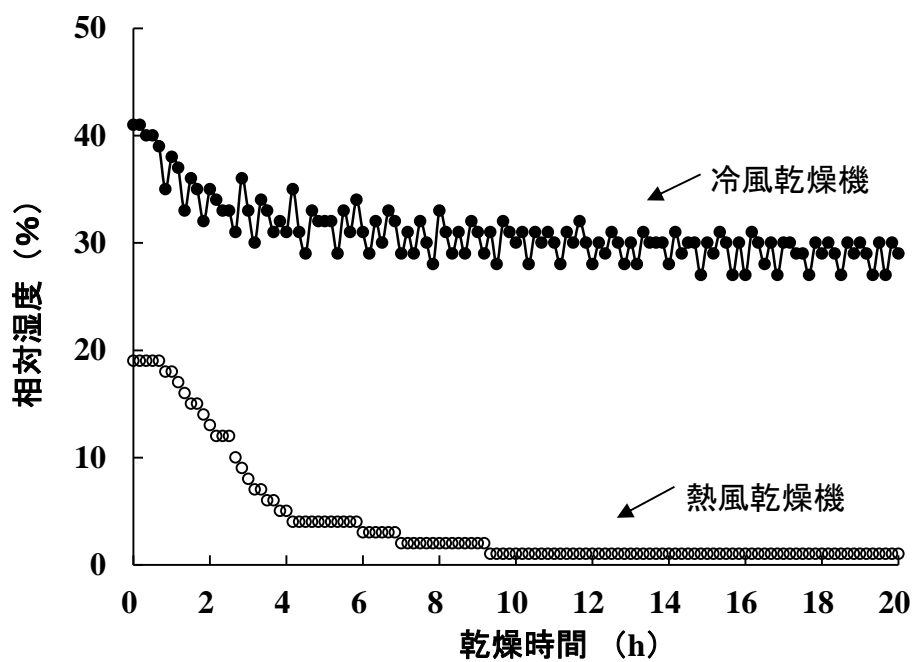


Fig. 5-2. 小アジ乾燥中の乾燥機庫内の相対湿度変化

乾燥に用いた小アジは、室温 5°Cの実験室にて内臓を除去して水道水で洗浄し腹開きにした後、約 10°Cに冷却した 10%食塩水に魚体全体を 20 分間浸漬した。

(2) 魚肉内部温度の変化

乾燥中の魚肉内部温度の経時変化を Fig. 5-3 に示した。冷風乾燥区の魚肉内部温度は、乾燥開始時の約 13°C から 2 時間で約 16°C、5 時間で約 18°C、8 時間で約 19°C まで上昇し、庫内設定温度 (20°C) に達するまで 10 時間を要し、その後は乾燥終了まで約 20°C を維持した。熱風乾燥区の魚肉内部温度は、乾燥 2 時間で約 40°C まで急激に上昇した。その後は、乾燥 17 時間まで緩やかに上昇して約 45°C となったが、熱風乾燥区の魚肉内部温度は庫内設定温度 (50°C) には達しなかった。この要因としては、熱風乾燥区では表面が過度に乾燥して表面硬化が進み、水分の蒸発が抑制されたため⁹⁷⁾であると考えられる。

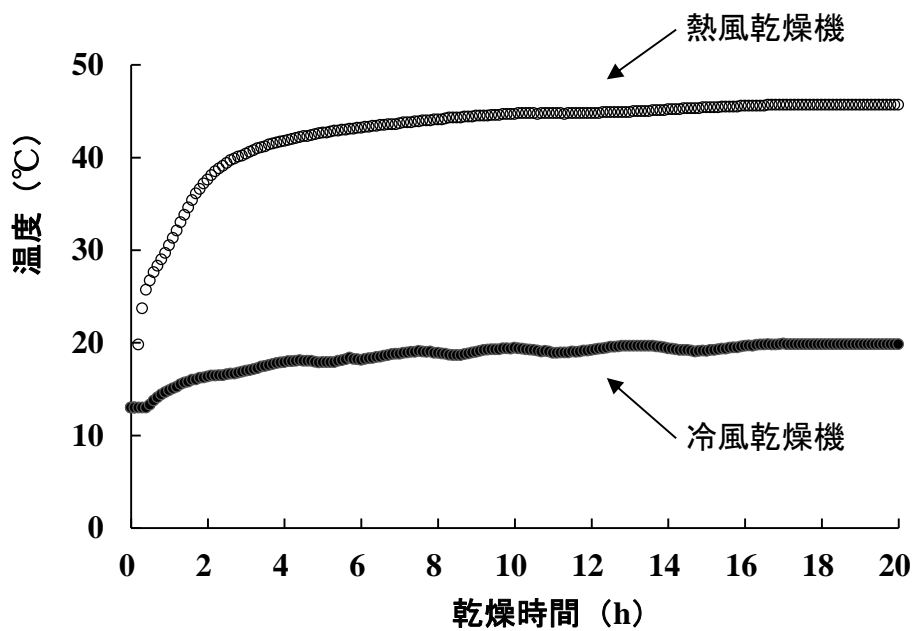


Fig. 5-3. 小アジ乾燥中の魚肉内部の温度変化

乾燥に用いた小アジは、室温 5°Cの実験室にて内臓を除去して水道水で洗浄し腹開きにした後、約 10°Cに冷却した 10%食塩水に魚体全体を 20 分間浸漬した。

第2項 小アジ乾燥中の魚肉の水分および塩分の変化

塩漬した魚肉を冷風乾燥（約 20℃）または熱風乾燥（約 50℃）により 20 時間まで乾燥させた際の水分、歩留まりおよび塩分の経時変化を Table 5-1 に示した。魚肉の水分は、塩漬後の 71% から 2 時間後には、冷風乾燥区で 67%、熱風乾燥区で 68% となり、両区とも一夜干し程度の水分¹¹⁵⁾となった。5 時間後の水分もほとんど差が認められなかった。しかしながら、8 時間後には、冷風乾燥区の水分は 62% となったのに対して、熱風乾燥区では 59% となり、熱風乾燥区の水分がやや速く低下する傾向が認められた。さらに 20 時間後には、冷風乾燥区の水分は 57% となったのに対して、熱風乾燥区では 47% となり、その差が拡大した。このように、水分の減少と歩留まりの変化はよく対応しており、20 時間後の歩留まりは、冷風乾燥区では 68% となり、熱風乾燥区では 56% となった。一方、塩分は水分の減少度合が大きい熱風乾燥区では 20 時間後に 2.7% となったが、冷風乾燥区では 2.2% にとどまった。本研究で用いた小アジの冷風乾燥機と熱風乾燥機による魚肉の水分の減少傾向は、乾燥 5 時間後までは大差がなかった。飯田ら¹⁰¹⁾は冷風乾燥機（設定温度 20℃、設定湿度 44%）を用いてマアジ塩乾品の水分量を 64~68% とするのに 8 時間を要したことを報告している。本研究で用いた冷風乾燥機による小アジ干物（水分量 64~67%）では乾燥に要した時間は 2~5 時間とかなり短縮されたことから、冷風乾燥法では対象魚のサイズが乾燥時間に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。

Table 5-1. 小アジ乾燥中の水分と塩分の変化

		乾燥時間 (h)				
		0	2	5	8	20
冷風乾燥区	水分 (%)	71 (100)	67 (89)	64 (82)	62 (78)	57 (68)
	塩分 (%)	1.5	1.7	1.8	1.9	2.2
熱風乾燥区	水分 (%)	71 (100)	68 (93)	63 (80)	59 (73)	47 (56)
	塩分 (%)	1.5	1.6	1.9	2.1	2.7

数値は平均値 (n = 3) を示す。

() 内は、0時間を100とした相対パーセント割合を示す。

第3項 冷風乾燥した小アジ干物の呈味成分の変化

(1) 核酸関連化合物の変化

乾燥に伴う小アジ魚肉中の核酸関連化合物の経時変化を乾燥重量換算で Table 5-2 に示した。核酸関連化合物の総量については、両試験区ともに塩漬後から乾燥 20 時間後まで大きな変化は認められなかった。冷風乾燥区では、乾燥 8 時間後までは、その組成にも大きな変化は認められなかった。しかしながら、乾燥 20 時間後にはイノシン酸量が塩漬前の約 6 割 ($15.7 \mu\text{mol/g}$) に減少し、イノシン量が塩漬前の約 10 倍 ($10.9 \mu\text{mol/g}$) に増加した。また、ヒポキサンチン量は乾燥中に増加傾向 ($p = 0.35$) を示し塩漬前の約 2 倍 ($2.2 \mu\text{mol/g}$) となった。これに対して、熱風乾燥区では、乾燥 2 時間後にアデニル酸が塩漬前の約 2 割 ($0.4 \mu\text{mol/g}$) に減少した。乾燥 5 時間後にはイノシン酸量が塩漬前の約 5 割 ($13.1 \mu\text{mol/g}$) に減少し、イノシン量とヒポキサンチン量は、それぞれ塩漬前の約 16 倍 ($16.3 \mu\text{mol/g}$)、約 3 倍 ($2.6 \mu\text{mol/g}$) に増加した。さらに、乾燥 20 時間後にはヒポキサンチン量が塩漬前の 10 倍以上 ($11.1 \mu\text{mol/g}$) に増加した。旨味に関与するイノシン酸¹¹⁶⁾について両試験区を比較すると、乾燥 2 時間後までは大差はなかったが、熱風乾燥区では乾燥 5 時間後までに急激に減少し、乾燥 20 時間後まで経時的に減少した ($p < 0.05$)。これに対して、冷風乾燥区では塩漬前から乾燥 8 時間後までは変化が小さく、乾燥 20 時間後に減少した ($p < 0.05$) が、塩漬後の 6 割以上は残存していた。両乾燥区の乾燥 20 時間後のイノシン酸含量の差は 10 倍以上であり、熱風乾燥区にはイノシン酸の旨味閾値である $1 \mu\text{mol/g}$ ¹¹⁶⁾程度の含量が残存していた。イノシン酸の分解には、主に魚類筋肉中のヌクレオチターゼ (EC 3.1, 3.5) および酸性ホスファターゼ (EC 3.1, 3.2) が関与する¹¹⁶⁾ことが知られている。また、マアジのイノシン酸分解酵素 (粗酵素) 活性は、 40°C 付近で最大となるが、 20°C 以下では活性が極めて低い¹¹⁷⁾。このイノシン酸分解酵素活性の温度依存性がマアジの乾燥に伴うイノシン酸の分解に影響を及ぼし熱風乾燥区では、冷風乾燥区よりも速やかにイノシン酸が分解されたものと考えられた。これらの結果は、低温乾燥中におけるマアジのイノシン酸の分解速度が小さいことを示した飯田らの報告¹⁰¹⁾とも良好に一致していた。また、苦

味に關与するヒポキサンチン¹⁰²⁾について、兩試験区を比較すると、冷風乾燥区では乾燥 8 時間後まで大きな変化は認められず 20 時間後に増加し、 $2.2 \mu\text{mol/g}$ (約 30 mg/100g) 生成したのに対し、熱風乾燥区では乾燥時間の経過とともに顯著に増加して 20 時間後で $11.1 \mu\text{mol/g}$ (約 150 mg/100g) 生成した。ヒポキサンチンの生成量はイノシンの生成量に比べて少なかった。魚類筋肉中のイノシンの分解には主に加水分解酵素であるイノシンヌクレオシターゼ (EC 3.2、2.2) が關与し、イノシンまたはヒポキサンチンの產生は、酵素活性の程度に依存する¹¹⁸⁾。中野ら¹¹⁸⁾はマアジにおけるイノシン分解酵素活性は低いことを示しており、これが本研究において乾燥中のヒポキサンチン量がイノシンと比べ少なかった要因と考えられた。

Table 5-2. 小アジ乾燥中の核酸関連化合物の変化 (μ mol/g of dry meat)

	塩漬前		冷風乾燥区						熱風乾燥区						ANOVA (P)				
	塩漬後		2		5		8		20		2		5			8		20	
アデノシン三リン酸	0.4 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.0 ^{ab}	0.2 ± 0.0 ^{ab}	0.2 ± 0.0 ^{ab}	0.2 ± 0.0 ^{ab}	0.2 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	0.0 ± 0.0 ^{ab}	<0.05
アデノシン二リン酸	1.3 ± 1.4 ^a	1.0 ± 1.0 ^{abc}	0.9 ± 1.0 ^{abc}	0.9 ± 1.0 ^{abc}	0.9 ± 0.8 ^{abc}	0.9 ± 0.8 ^{abc}	1.0 ± 1.0 ^{abc}	1.0 ± 1.0 ^{abc}	1.0 ± 1.0 ^{abc}	1.0 ± 0.3 ^{abc}	0.9 ± 0.9 ^{abc}	1.2 ± 1.2 ^{ab}	1.0 ± 1.0 ^{abc}	1.0 ± 1.0 ^{abc}	0.5 ± 0.5 ^c	0.5 ± 0.5 ^c	0.5 ± 0.5 ^c	0.5 ± 0.5 ^c	<0.05
アミノール酸	1.8 ± 1.8 ^a	0.9 ± 0.9 ^b	0.8 ± 0.8 ^{bc}	0.8 ± 0.8 ^{bc}	0.8 ± 0.8 ^{bc}	0.7 ± 0.1 ^{bc}	0.3 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.0 ^c	0.4 ± 0.4 ^{cd}	0.4 ± 0.4 ^{cd}	0.2 ± 0.1 ^d	0.2 ± 0.1 ^d	0.2 ± 0.1 ^d	0.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^d	<0.01
イノシン酸	28.5 ± 1.5 ^a	24.3 ± 4.3 ^{ab}	25.6 ± 0.1 ^{ab}	27.0 ± 2.4 ^a	26.4 ± 1.3 ^{ab}	15.7 ± 1.5 ^{cd}	15.7 ± 1.5 ^{cd}	15.7 ± 1.5 ^{cd}	15.7 ± 1.5 ^{cd}	21.0 ± 1.0 ^b	13.1 ± 0.4 ^c	6.9 ± 1.8 ^d	1.1 ± 0.2 ^e	1.1 ± 0.2 ^e	1.1 ± 0.2 ^e	1.1 ± 0.2 ^e	1.1 ± 0.2 ^e	1.1 ± 0.2 ^e	<0.01
イノシン	0.7 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.0 ^c	1.8 ± 0.9 ^c	3.1 ± 0.2 ^c	4.1 ± 0.6 ^c	10.9 ± 3.3 ^b	10.9 ± 3.3 ^b	10.9 ± 3.3 ^b	10.9 ± 3.3 ^b	5.0 ± 0.6 ^c	16.3 ± 3.7 ^a	20.5 ± 2.3 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	16.4 ± 0.8 ^a	<0.01
ヒポキサンチン	0.8 ± 0.2 ^{de}	0.8 ± 0.2 ^{de}	1.2 ± 1.2 ^{cd}	0.8 ± 0.5 ^{de}	0.7 ± 0.1 ^e	2.2 ± 0.5 ^{cd}	2.2 ± 0.5 ^{cd}	2.2 ± 0.5 ^{cd}	2.2 ± 0.5 ^{cd}	0.8 ± 0.1 ^{de}	2.6 ± 0.3 ^c	4.2 ± 0.7 ^b	11.1 ± 0.6 ^a	11.1 ± 0.6 ^a	11.1 ± 0.6 ^a	11.1 ± 0.6 ^a	11.1 ± 0.6 ^a	11.1 ± 0.6 ^a	<0.01
Total	33.6 ± 1.0	28.7 ± 4.9	30.5 ± 2.1	32.8 ± 2.5	32.7 ± 0.9	30.1 ± 5.6	30.1 ± 5.6	30.1 ± 5.6	30.1 ± 5.6	28.2 ± 0.2	33.4 ± 4.4	32.8 ± 1.4	29.2 ± 0.5	29.2 ± 0.5	29.2 ± 0.5	29.2 ± 0.5	29.2 ± 0.5	29.2 ± 0.5	>0.05

乾燥前の小アジ試料の浸漬は、10°Cに冷却した10%食塩水に20分間浸漬した。
同一行の異符号 (a~e) 間で有意差があることを示す(平均値 ± SD、n=3)。

(2) 遊離アミノ酸量の変化

乾燥に伴う小アジ魚肉中の遊離アミノ酸量の経時変化を乾燥重量換算で Table 5-3 に示した。遊離アミノ酸の総量については、冷風乾燥区では塩漬前から乾燥 20 時間まで大きな変化を示さなかったが、熱風乾燥区ではやや増加する傾向 ($p = 0.70$) が認められた。うま味を呈するグルタミン酸¹¹⁶⁻¹²²⁾の量は、両区とも乾燥中に大きな変化を示さなかった。甘味を呈するスレオニン、セリン、グリシン、アラニンおよびプロリン¹²²⁾の量は、冷風乾燥区では大きな変化は認められなかったが、熱風乾燥区では、アラニンが 5 時間後に約 2 倍 (99 mg/100 g)、グリシンとセリンが 20 時間後にそれぞれ、約 2 倍 (75 mg/100 g)、約 4 倍 (17 mg/100 g) に増加した ($p < 0.05$)。また、これら甘味を呈する遊離アミノ酸の合計量を比較すると、冷風乾燥区では 20 時間後で 128 mg/100 g であったが、熱風乾燥区では 5 時間以降有意に ($p < 0.05$) 増加し、20 時間後には 265 mg/100 g に達した。一方、苦味を呈するバリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンおよびアルギニン¹²²⁾の量は、冷風乾燥区では、ほとんど変化しなかったが、熱風乾燥区では、メチオニン、ロイシンが 5 時間後にそれぞれ約 2 倍 (12 mg/100 g)、約 2 倍 (31 mg/100 g)、バリン、イソロイシン、フェニルアラニンが 8 時間後に、それぞれ約 2 倍 (31 mg/100 g)、約 2 倍 (21 mg/100 g)、約 20 倍 (19 mg/100 g)、アルギニンが 20 時間後に約 40 倍 (39 mg/100 g) に増加した ($p < 0.05$)。また、これら苦味を呈する遊離アミノ酸の合計量を比較すると、冷風乾燥区では 20 時間後で 59 mg/100 g であったが、熱風乾燥区では 8 時間以降、顕著に増加し ($p < 0.05$)、20 時間後には冷風乾燥区の約 4 倍の 220 mg/100 g に達した。熱風乾燥区でこれらの遊離アミノ酸が増加した要因としては、マアジ筋肉中に内在するカテプシン A¹²³⁾等のプロテアーゼが、熱風乾燥区の魚肉内部の温度が約 40°C に達した乾燥 2 時間以降に活性化したためと考えられる。一方、熱風乾燥区では、乾燥 8 時間以降ヒスチジン含量が顕著に減少し、乾燥 20 時間以降リジン含量が顕著に減少した。ヒスチジンとリジンの減少要因は、乾燥中にこれら両アミノ酸と、核酸関連化合物イノシンが生成される際に副生したりオース¹¹⁹⁻¹²¹⁾とのメイラード反応が促進された^{124, 125)}ことが推察される。このことは、熱

風乾燥区の 15 時間乾燥後の色調（黄み）が b^* 値 = 6.3 と冷風乾燥区のそれと比べて約 2 倍（Table 5-4）であることから支持される。

Table 5-3. 小アジ乾燥中の遊離アミノ酸量の変化 (mg/100 g of dry meat)

	塩漬前										塩漬後										ANOVA (P)									
	冷風乾燥区					熱風乾燥区					冷風乾燥区					熱風乾燥区														
	2		5			8		20			2		5			8		20			2		5			8		20		
タウリン	323 ± 0	56 ± 0	324 ± 0	52 ± 0	397 ± 0	152 ± 0	492 ± 0	54 ± 0	461 ± 0	178 ± 0	493 ± 0	519 ± 0	64 ± 0	590 ± 0	170 ± 0	507 ± 0	69 ± 0	554 ± 3	15 ± 1	>0.05										
○ アスパラギン酸	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 3	1 ± 1	<0.01										
○ スレオニン	13 ± 2	2 ± 4	14 ± 4	4 ± 4	10 ± 3	3 ± 3	9 ± 8	8 ± 3	3 ± 2	3 ± 2	15 ± 6	7 ± 5	4 ± 4	12 ± 5	10 ± 4	21 ± 9	10 ± 0	18 ± 17	15 ± 2	>0.05										
○ セリン	10 ± 3	3 ± 1	4 ± 4	4 ± 2	5 ± 2	2 ± 3	3 ± 3	3 ± 2	2 ± 2	3 ± 2	6 ± 16	19 ± 19	5 ± 5	33 ± 33	19 ± 10	43 ± 43	5 ± 5	33 ± 75	3 ± 6	>0.05										
○ グルタミン酸	38 ± 3	10 ± 1	34 ± 1	2 ± 2	33 ± 7	6 ± 7	41 ± 37	12 ± 12	44 ± 7	7 ± 7	37 ± 37	34 ± 34	5 ± 5	42 ± 42	3 ± 3	43 ± 43	10 ± 10	75 ± 75	6 ± 6	<0.01										
○ アラニン	53 ± 4	10 ± 1	47 ± 3	10 ± 2	42 ± 13	9 ± 4	53 ± 21	9 ± 4	56 ± 15	15 ± 5	62 ± 14	61 ± 16	3 ± 3	99 ± 26	15 ± 4	86 ± 31	15 ± 12	138 ± 42	10 ± 4	<0.01										
○ シトルリン	4 ± 1	3 ± 3	3 ± 16	2 ± 0	4 ± 13	1 ± 2	3 ± 21	1 ± 4	4 ± 15	1 ± 5	3 ± 14	3 ± 16	1 ± 1	4 ± 26	0 ± 4	4 ± 31	1 ± 12	3 ± 42	1 ± 4	<0.01										
● バリン	13 ± 4	3 ± 4	16 ± 0	2 ± 0	13 ± 5	2 ± 2	21 ± 12	3 ± 3	4 ± 4	4 ± 4	6 ± 6	7 ± 7	1 ± 1	12 ± 12	3 ± 3	19 ± 19	9 ± 9	24 ± 24	4 ± 4	<0.01										
● メチオニン	4 ± 4	2 ± 2	6 ± 6	2 ± 2	6 ± 9	2 ± 2	15 ± 15	3 ± 3	4 ± 4	3 ± 3	9 ± 9	9 ± 9	1 ± 1	17 ± 17	4 ± 4	21 ± 21	14 ± 14	24 ± 24	5 ± 5	<0.01										
● イソロイシン	11 ± 8	2 ± 2	6 ± 6	3 ± 3	11 ± 11	2 ± 2	24 ± 24	5 ± 5	16 ± 16	7 ± 7	14 ± 14	14 ± 14	2 ± 2	31 ± 31	8 ± 8	40 ± 40	22 ± 22	60 ± 60	8 ± 8	<0.01										
● ロイシン	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 6	2 ± 2	6 ± 6	2 ± 2	9 ± 9	6 ± 6	1 ± 1	17 ± 17	2 ± 2	18 ± 18	2 ± 2	22 ± 22	4 ± 4	<0.01										
● チロシン	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 10	8 ± 8	6 ± 6	3 ± 3	8 ± 8	6 ± 6	1 ± 1	17 ± 17	2 ± 2	19 ± 19	8 ± 8	29 ± 29	5 ± 5	<0.01										
● フェニルアラニン	5 ± 5	5 ± 5	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 4	4 ± 4	10 ± 10	9 ± 9	6 ± 6	2 ± 2	13 ± 13	4 ± 4	4 ± 4	13 ± 13	11 ± 11	9 ± 9	8 ± 8	11 ± 11	1 ± 1	>0.05										
○ リジン	52 ± 1,063	22 ± 150	55 ± 757	23 ± 107	41 ± 892	16 ± 46	73 ± 818	21 ± 129	78 ± 848	24 ± 62	73 ± 704	37 ± 949	10 ± 95	61 ± 993	24 ± 234	125 ± 917	89 ± 165	99 ± 748	14 ± 38	<0.05										
○ ヒスチジン	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	11 ± 11	2 ± 2	9 ± 9	5 ± 5	8 ± 8	5 ± 5	1 ± 1	15 ± 15	5 ± 5	28 ± 28	19 ± 19	39 ± 39	4 ± 4	<0.01										
○ アルギニン	3 ± 3	6 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	2 ± 2	10 ± 10	11 ± 11	0 ± 0	0 ± 0	8 ± 8	3 ± 3	3 ± 3	6 ± 6	5 ± 5	32 ± 32	37 ± 37	17 ± 17	3 ± 3	>0.05										
○ プロリン	1,631 ± 118	191 ± 23	1,296 ± 96	148 ± 17	1,501 ± 91	134 ± 21	1,629 ± 116	189 ± 9	1,596 ± 105	186 ± 20	1,498 ± 128	1,704 ± 110	128 ± 11	1,994 ± 164	367 ± 10	1,951 ± 191	412 ± 49	1,958 ± 265	80 ± 6	<0.01										
○ 小計	38 ± 8	8 ± 8	28 ± 28	4 ± 4	39 ± 39	4 ± 4	93 ± 93	9 ^{cd} ± 9 ^{bc}	60 ± 60	20 ± 20	59 ± 59	57 ± 57	7 ± 7	118 ± 118	24 ± 24	158 ± 158	83 ± 83	219 ± 219	27 ± 27	<0.05										

乾燥前の小アジ試料の浸漬は、10°Cに冷却した10%食塩水に20分間浸漬した。

同一行の異符号 (a~e) 間で有意差があることを示す (平均値 ± SD, n = 3)。

○: 甘味を呈する遊離アミノ酸 (スレオニン、セリン、グリシン、アラニン、プロリン)

●: 苦味を呈する遊離アミノ酸 (バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、アルギニン)

Table 5-4. 小アジの乾燥前後と焙焼(2h乾燥)後の色調の変化

塩漬後	冷風乾燥区			熱風乾燥区			ANOVA(P)
	2h乾燥	15h乾燥	2h乾燥後焙焼	2h乾燥	15h乾燥	2h乾燥後焙焼	
L*	37.50 ± 1.84 ^b	34.80 ± 2.28 ^b	60.21 ± 0.07 ^a	37.84 ± 0.94 ^b	36.59 ± 3.06 ^b	62 ± 0.21 ^a	p < 0.01
a*	-1.00 ± 0.82 ^{bc}	1.90 ± 1.47 ^a	-2.41 ± 1.06 ^c	0.61 ± 1.28 ^{ab}	1.07 ± 0.46 ^{ab}	-3.2 ± 0.77 ^c	p < 0.01
b*	-4.31 ± 1.8 ^e	2.78 ± 0.63 ^{cd}	11.60 ± 0.52 ^b	1.54 ± 0.92 ^d	6.33 ± 2.08 ^c	17.6 ± 1.50 ^a	p < 0.01

L* ; 明るさ a* ; 赤み b* ; 黄み

第4項 冷風および熱風乾燥した小アジ干物の焙焼による呈味成分の変化

これまでの検討により、冷風乾燥区は熱風乾燥区と比べ、うま味を呈するイノシン酸の残存量が多く、苦味を呈する遊離アミノ酸の増加量が少ない傾向にあり、その差は乾燥時間の経過とともに顕著となることが明らかとなった。しかしながら、近年の塩干品は、一夜干し程度の半乾品が主流であり^{106,107)}、生で食すことは少ない。そこで、両乾燥区の2時間乾燥後の半乾品について、焙焼後の呈味成分の変化を比較検討するとともに、官能評価を行った。

(1) 核酸関連化合物の変化

焙焼前後の魚肉に含まれる核酸関連化合物を乾燥重量換算でTable 5-5に示した。核酸関連化合物の総量については、両区とも焙焼前後の変化はほとんどなかった。イノシン酸量については、両区とも焙焼前と比較して減少したが ($p < 0.05$)、減少率は熱風乾燥区が冷風乾燥区の約2倍であり、残存量は冷風乾燥区の方が有意に ($p < 0.01$) 多かった。イノシン量については、両区とも焙焼後に増加し ($p < 0.05$)、焙焼後の量は熱風乾燥区の方が有意に ($p < 0.05$) 多かった。また、ヒポキサンチン量については、両区とも焙焼後に増加傾向 (冷風乾燥区: $p = 0.86$ 、熱風乾燥区: $p = 0.12$) が認められ、焙焼後の量は熱風乾燥区の方が多い傾向 ($p = 0.10$) にあった。

焙焼前の核酸関連物質の組成をみると、イノシン酸量については、両区に大差はないが、イノシン量については、冷風乾燥区よりも熱風乾燥区の方が有意に ($p < 0.01$) 多かった。この要因としては、乾燥中の核酸関連物質の分解は、魚類ではイノシン酸が蓄積されやすく、両区とも分解が速やかに進行したが、イノシンまでの分解については、熱風乾燥区の方が速やかに進行したことが推察される。その結果、熱風乾燥区で多く生成したイノシンが焙焼中にさらにヒポキサンチンに分解し、その含量が増加したと考えられた。

Table 5-5. 小アジ干物に含まれる核酸関連化合物の焙焼前後の変化 (μ mol/g of dry meat)

	塩漬前		塩漬後		冷風乾燥区		熱風乾燥区		ANOVA (P)
	焙焼前	焙焼後	焙焼前	焙焼後	焙焼前	焙焼後	焙焼前	焙焼後	
アデノシン三リン酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	> 0.05
アデノシン二リン酸	1.51 \pm 0.08 ^a	1.19 \pm 0.07 ^{ab}	0.80 \pm 0.18 ^c	0.87 \pm 0.23 ^c	1.43 \pm 0.03 ^a	0.89 \pm 0.10 ^{bc}	1.43 \pm 0.03 ^a	0.89 \pm 0.10 ^{bc}	< 0.01
アデニル酸	0.38 \pm 0.20 ^{ab}	0.29 \pm 0.02 ^{ab}	0.43 \pm 0.11 ^{ab}	0.58 \pm 0.17 ^a	0.12 \pm 0.04 ^b	0.47 \pm 0.13 ^{ab}	0.12 \pm 0.04 ^b	0.47 \pm 0.13 ^{ab}	< 0.05
イノシン酸	33.17 \pm 0.98 ^a	27.25 \pm 0.2 ^{bc}	28.82 \pm 0.67 ^b	26.72 \pm 0.57 ^c	27.01 \pm 0.19 ^{bc}	23.00 \pm 1.25 ^d	27.01 \pm 0.19 ^{bc}	23.00 \pm 1.25 ^d	< 0.01
イノシン	0.55 \pm 0.08 ^c	0.74 \pm 0.11 ^c	1.89 \pm 0.51 ^c	4.14 \pm 0.13 ^b	4.30 \pm 0.91 ^b	7.02 \pm 1.02 ^a	4.30 \pm 0.91 ^b	7.02 \pm 1.02 ^a	< 0.01
ヒポキサンチン	0.73 \pm 0.87 ^b	0.66 \pm 0.1 ^b	0.49 \pm 0.09 ^b	0.95 \pm 0.11 ^{ab}	0.98 \pm 0.51 ^{ab}	2.14 \pm 0.67 ^a	0.98 \pm 0.51 ^{ab}	2.14 \pm 0.67 ^a	< 0.05
合計	36.34 \pm 0.69 ^a	30.13 \pm 0.41 ^b	32.43 \pm 0.31 ^c	33.26 \pm 0.56 ^c	33.83 \pm 0.91 ^c	33.52 \pm 1.3 ^c	33.83 \pm 0.91 ^c	33.52 \pm 1.3 ^c	< 0.01

小アジの乾燥時間は両区とも2時間とし、焙焼時間は10分とした。

同一行の異符号 (a~e) 間で有意差があることを示す (平均値 \pm SD、n = 3)。

N.D. : not detected

(2) 遊離アミノ酸量の変化

焙焼前後の魚肉に含まれる遊離アミノ酸量を乾燥重量換算で Table 5-6 に示した。両区を焙焼前後で比較すると、総量については、熱風乾燥区では減少傾向 ($p = 0.06$) を示したが、冷風乾燥区では増加傾向 ($p = 0.88$) を示した。うま味を呈するグルタミン酸^{116, 117)}については、両区とも変化が小さかった。前項で示した甘味および苦味を呈するアミノ酸の合計量を比較すると、両区で大きな変化は認められなかったが、焙焼後の甘味を呈するアミノ酸の合計量は、冷風乾燥区 (201 mg/100 g) が熱風乾燥区 (170 mg/100 g) と比較してやや多い傾向 ($p = 0.92$) が認められた。また、リジンとヒスチジンの量は、熱風乾燥区では有意に ($p < 0.05$) 減少したが、冷風乾燥区では変化が小さかった。リジンとヒスチジンは、メイラード反応の進行により消費される^{124, 125)}ことから、熱風乾燥区のリジンとヒスチジン量の減少要因は、冷風乾燥区と比べて多く生成したリボース¹¹⁹⁻¹²¹⁾等の還元糖とのメイラード反応が、焙焼(加熱)により促進された^{124, 125)}ことが要因の一つと考えられた。このことは、熱風乾燥区の焙焼後の褐変が著しく、色調(黄み)で比較すると熱風乾燥区 (b^* 値 = 17.6) が冷風乾燥区 (b^* 値 = 11.6) より優位に ($p < 0.01$) 高いことから支持された (Table 5-4)。本研究で認められた乾燥中のヒスチジンの減少は、干しあご乾燥中にヒスチジンが減少すること¹²⁶⁾や、煮干いわしの貯蔵中にリジンとヒスチジンが褐変の進行に伴い減少する結果¹²⁵⁾とも一致していた。なお、焙焼(加熱)によりドリップが生成し、遊離アミノ酸が流出する可能性も考えられるが、本研究では焙焼中の魚体外へのドリップは両区ともほとんど認められず、焙焼前後の重量変化は両区でほとんど差がなかったため、重量変化は主に水分の蒸発によるものと推察され、遊離アミノ酸の変化は流出に起因するものではないと考えられた。

Table 5-6. 小アジ干物に含まれる遊離アミノ酸量の焙焼前後の変化 (mg/100 g of dry meat)

	塩漬前			塩漬後			冷風乾燥区			熱風乾燥区			ANOVA (P)
	焙焼前			焙焼後			焙焼前			焙焼後			
	276 ± 43	273 ± 49	424 ± 129	404 ± 93	308 ± 85	318 ± 38							
タウリン	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	> 0.05	
○ アスパラギン酸	10 ± 13	10 ± 7	14 ± 12	32 ± 6	24 ± 21	25 ± 9	25 ± 6	5 ± 6	58 ± 16	30 ± 11	25 ± 8	> 0.05	
○ セリン	44 ± 5	28 ± 5	46 ± 5	55 ± 17	30 ± 6	57 ± 19	32 ± 6	30 ± 11	96 ± 31	87 ± 24	25 ± 8	> 0.05	
○ グルタミン酸	33 ± 7	27 ± 10	31 ± 4	32 ± 6	109 ± 20	25 ± 8	109 ± 20	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	> 0.05	
○ アラニン	75 ± 20	52 ± 13	104 ± 21	109 ± 20	65 ± 54	57 ± 43	46 ± 12	12 ± 6	65 ± 54	57 ± 43	57 ± 43	> 0.05	
● シトルリン	17 ± 6	15 ± 2	43 ± 15	46 ± 12	14 ± 5	12 ± 5	14 ± 5	5 ± 3	41 ± 39	35 ± 30	35 ± 30	> 0.05	
● バリン	6 ± 2	7 ± 1	13 ± 4	27 ± 7	43 ± 33	39 ± 25	27 ± 7	7 ± 2	43 ± 33	39 ± 25	39 ± 25	> 0.05	
● メチオニン	9 ± 3	7 ± 3	26 ± 6	38 ± 7	11 ± 3	8 ± 2	11 ± 3	4 ± 2	10 ± 5	11 ± 2	11 ± 2	> 0.05	
● イソロイシン	14 ± 4	8 ± 4	36 ± 7	38 ± 7	12 ± 9	9 ± 7	13 ± 4	7 ± 1	12 ± 9	9 ± 7	9 ± 7	> 0.05	
● ロイシン	4 ± 2	7 ± 4	9 ± 3	11 ± 3	177 ± 11	186 ± 16	177 ± 11	256 ± 17	186 ± 16	186 ± 16	186 ± 16	< 0.01	
● フェニルアラニン	3 ± 5	5 ± 1	11 ± 4	13 ± 4	1,030 ± 170	1,146 ± 25	1,030 ± 170	1,085 ± 99	1,085 ± 99	1,085 ± 99	1,085 ± 99	< 0.01	
● オルニチン	6 ± 6	7 ± 6	7 ± 2	7 ± 1	15 ± 11	16 ± 8	17 ± 10	19 ± 12	16 ± 8	16 ± 8	16 ± 8	> 0.05	
リジン	119 ± 1 ^c	112 ± 1 ^c	194 ± 12 ^b	177 ± 11 ^b	256 ± 17 ^a	186 ± 16 ^b	177 ± 11 ^b	256 ± 17 ^a	186 ± 16 ^b	186 ± 16 ^b	186 ± 16 ^b	< 0.01	
ヒスチジン	1,073 ± 86 ^a	893 ± 73 ^{ab}	1,030 ± 170 ^{ab}	1,146 ± 25 ^a	1,085 ± 99 ^a	794 ± 12 ^b	1,146 ± 25 ^a	1,085 ± 99 ^a	794 ± 12 ^b	794 ± 12 ^b	794 ± 12 ^b	< 0.01	
● アルギニン	3 ± 5	9 ± 6	15 ± 11	17 ± 10	30 ± 23	24 ± 16	17 ± 10	30 ± 23	24 ± 16	24 ± 16	24 ± 16	> 0.05	
○ プロリン	10 ± 8	9 ± 9	16 ± 13	19 ± 17	2,025 ± 200 ^{ab}	1,713 ± 143 ^{bc}	19 ± 17	30 ± 23	24 ± 16	24 ± 16	24 ± 16	> 0.05	
合計	1,701 ± 160 ^{bc}	1,472 ± 142 ^c	2,025 ± 200 ^{ab}	2,156 ± 139 ^a	2,102 ± 68 ^{ab}	1,713 ± 143 ^{bc}	2,156 ± 139 ^a	2,102 ± 68 ^{ab}	1,713 ± 143 ^{bc}	1,713 ± 143 ^{bc}	1,713 ± 143 ^{bc}	< 0.01	
○ 小計	127 ± 38	102 ± 14	170 ± 17	201 ± 38	185 ± 62	170 ± 48	201 ± 38	185 ± 62	170 ± 48	170 ± 48	170 ± 48	> 0.05	
● 小計	35 ± 18	35 ± 8	102 ± 23	109 ± 19	125 ± 93	113 ± 70	109 ± 19	125 ± 93	113 ± 70	113 ± 70	113 ± 70	> 0.05	

小アジの乾燥時間は両区とも2時間とし、焙焼時間は10分とした。

○：甘味を呈する遊離アミノ酸（スレオニン、セリン、グリシン、アラニン、アラニン、プロリン）

●：苦味を呈する遊離アミノ酸（バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、アルギニン）

同一行の異符号 (a~e) 間で有意差があることを示す (平均値 ± SD, n=3)。

N.D.: not detected

第5項 冷風乾燥した小アジ干物の焙焼後の官能評価

両乾燥区で2時間乾燥させた半乾品（水分約68%）を焙焼後に官能評価した結果をFig. 5-4に示した。冷風乾燥区は、甘味が有意に（ $p < 0.01$ ）強く、うま味が強い傾向（ $\chi^2 = 0.69 < 3.84$ ）にあり、味（おいしさ）、後味、食感、総合評価の点で有意に（食感： $p < 0.05$ 、食感以外： $p < 0.01$ ）好ましい結果となった。これらの要因として、熱風乾燥区では、強い苦味を呈するヒポキサンチン^{102, 127)}の生成量が多く、苦味を呈する成分は甘味を弱める可能性がある^{111, 128, 129)}ため、冷風乾燥区と比較して甘味が弱められたことが考えられる。また、冷風乾燥区では、うま味を呈するイノシン酸¹¹⁶⁾が多く残存したため、うま味が強く感じられたことが考えられる。一方、熱風乾燥区は、メイラード反応の促進が原因と推察されるヒスチジン含量の著しい減少が焙焼後に認められた。メイラード反応が進行すると、ヒスチジンが減少するが、ヒスチジンには他のアミノ酸との共存により酸味を伴ううま味を与え、呈味を強化する効果がある^{126, 127, 130, 131)}。このヒスチジンの顕著な減少が、熱風乾燥区の甘味やうま味の呈味を弱めた要因の一つと考えられる。色調の点では評価が2分した。この要因としては、パネルの塩干品の色に対する嗜好に多様性があることが考えられる。食感が冷風乾燥区で好ましい結果であった要因については、保水力や筋原繊維たんぱくの変性等が関与すると考えられる。

本研究の結果から、高温・長時間の乾燥は乾燥中および焙焼後の核酸関連物質と遊離アミノ酸組成を大きく変化させ、呈味性を低下させることが示唆された。つまり、塩干品の乾燥温度は、タンパク質の変性や脂質の酸敗等だけでなく、呈味性の観点からも低温が好ましいことを示唆している。このことは、低利用魚（小アジ）に対してはそのサイズ特性（小さい）から短時間で低温乾燥させる技法に適しており、付加価値向上に有効であることを示している。

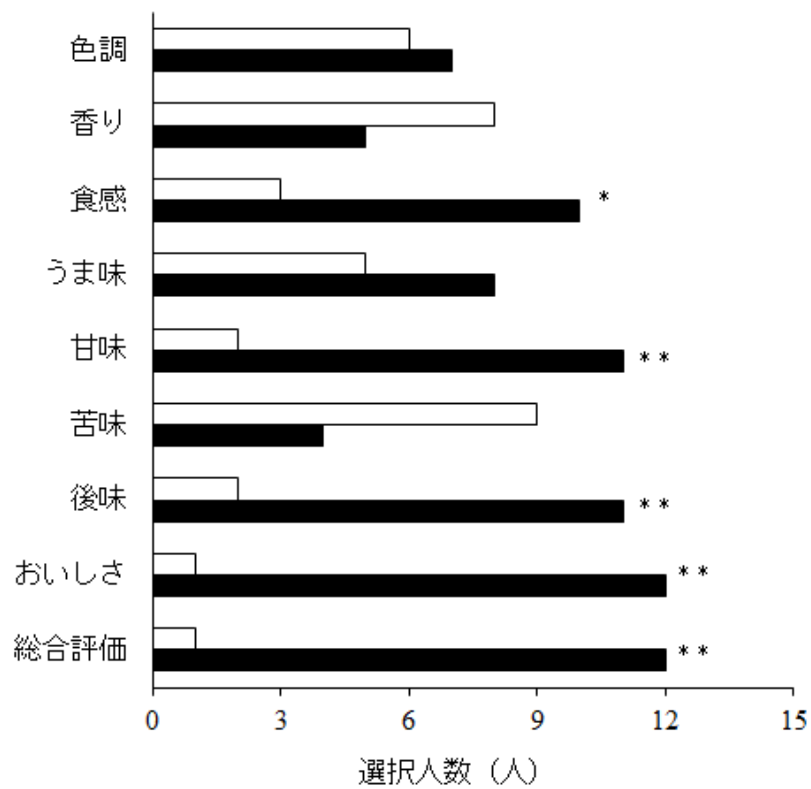


Fig. 5-4. 小アジ干物の官能評価

官能評価に用いた干物は、小アジを2時間乾燥させた後、10分間焙焼した個体を均一になるよう身をほぐした。

□：熱風乾燥区

■：冷風乾燥区

** $p < 0.01$ 、* $p < 0.05$ 、 $n = 13$

第4節 小括

This Chapter aims to investigate the differences in taste-active components between dried horse mackerel prepared by cold air drying at 20°C (CAD) and those prepared by hot air drying at 50°C (HAD). The content of inosine monophosphates in HAD dried horse mackerel was significantly less than those obtained after CAD (1.1 ± 0.2 and $15.7 \pm 1.5 \mu\text{mol/g}$, respectively). On the other hand, contents of bitter-taste components, including hypoxanthine, valine, and leucine, in HAD dried horse mackerel were 4 times higher than those obtained after CAD (219 ± 27 and $59 \pm 9 \text{ mg/100 g}$, respectively). Next, two kinds of dried horse mackerel prepared by CAD or HAD for 2 hours were grilled and the changes in taste-active components by grilling were investigated. After grilling, free amino acids, lysine, and histidine in dried horse mackerel by HAD (1713 ± 143 , 186 ± 16 , and $794 \pm 12 \text{ mg/100 g}$, respectively) decreased by a greater extent than after CAD (2156 ± 139 , 177 ± 11 , and $1146 \pm 25 \text{ mg/100 g}$, respectively). Conversely, the content of hypoxanthine in grilled-dried horse mackerel after HAD ($2.14 \pm 0.67 \mu\text{mol/g}$) was greater than CAD ($0.95 \pm 0.11 \mu\text{mol/g}$). Grilled-dried horse mackerel after CAD was rated as sweeter and more acceptable than that after HAD by sensory evaluation. These results indicated that the differences in taste-active components of dried horse mackerel prepared by CAD or HAD were closely related to the sensory evaluation results, and that the dried product obtained after CAD was preferable over that after HAD.

第6章 総括

2015年のG7エルマウ・サミット（ドイツ）では、首脳宣言で「天然資源の保護と効率的な利用は、持続可能な開発のために不可欠である」とされ、日本を含めたG7各国は、引き続き、資源生産性を向上させるための野心的な行動を取ることとされた。また、同年の国連サミットにより採択された持続可能な開発のための2030アジェンダには、持続可能な開発目標（SDGs）のターゲットとして2030年までに、「世界の消費と生産における資源効率を漸進的に改善させ、経済成長と環境悪化の分断を図る」こと、「天然資源の持続可能な管理及び効率的な利用を達成する」こと、そして、「廃棄物の発生防止、削減、再生利用及び再利用により、廃棄物の発生を大幅に削減する」ことが掲げられた。今後、日本もこの目標に向けた取組みを進めていく必要がある。

日本国内においては、経済成長の結果、深刻化した不法投棄の頻発、最終処分場の逼迫とそれによる更なる不法投棄の誘発といった悪循環を断つべく、循環型社会形成推進基本法（平成12年法律第110号）を始めとした各種リサイクル法が制定され、「天然資源の消費の抑制と環境負荷の低減」が課題として掲げられた。

当初の喫緊の課題であった不法投棄の頻発や最終処分場の逼迫への対応は進んでいるものの、循環型社会の本来の目的である循環を基調とする社会経済システムの実現「天然資源の消費の抑制と環境負荷の低減」の進捗は遅れている。今後は、資源が廃棄・処分される段階の取組だけでなく、その前の資源の生産・流通・消費といった段階で、資源の消費量を削減することが重要であり、その実現には、環境へなるべく負荷をかけないゼロエミッション化を図る必要がある。

そこで本研究では、定置網漁業で混獲される規格外の小アジを有効活用して、廃棄物の発生を抑制した加工品の開発研究に取り組んだ。

第2章では、規格外の小アジの魚体すべてを原料として有効活用した小アジ味噌（水産発酵調味料）の開発とその高品質化について検討した。骨、鱗等の主成分であるカルシウム化合物（第二リン酸カルシウム、水酸化第三リン酸カルシウム、ヒドロドロ

キシアパタイト)の可溶化にはクエン酸が効果的である。そこで原料魚(ミンチ)にクエン酸を加えて攪拌・静置した後、仕込みを行うことにより、魚体の骨、鱗等の軟化を試みた。その結果、骨等が軟化するだけでなく、小アジ味噌中に水溶性カルシウムが遊離し、その含有量は対照区の約3倍に達することが明らかとなった。生体におけるカルシウムの吸収には、カルシウムの溶解性が重要な決定因子の一つであることから、この小アジ味噌はカルシウムの吸収性が高いことが推察され、機能性食品素材としても大いに役立つことが期待される。また、呈味成分の面では、クエン酸を添加しても対照区と同程度(対照区の約9割)の遊離アミノ酸を生成し、呈味成分が著しく減少しないことを確認した。市販の米味噌に小アジ味噌を10%添加して味噌汁を調製し、官能評価したところ、旨味が増強されることが明らかとなった。以上のことから魚味噌の醸造工程にクエン酸処理工程を加えることにより、低利用水産資源の有効利用が図られるだけでなく、廃棄物を抑制したゼロエミッション化と機能性成分を含んだ高品質な魚味噌の醸造が可能となることが示唆された。

第3章では、第2章で添加したクエン酸の抗菌作用に着目し、魚味噌の製造過程で生成するヒスタミンの生成抑制を検討した。まず、小アジ味噌から耐塩性のヒスタミン生成菌を単離・同定し、*Staphylococcus epidermidis* TYH1株と命名した。次に、食品添加物として使用される各種有機酸や、糖、油脂(TYH1株が糖、油脂を資化して酸を生成するため)を用い、TYH1株によるヒスタミン生成抑制効果について調べた。その結果、有機酸にヒスタミン生成抑制効果があることを確認し、本研究で用いた有機酸の中では、クエン酸の効果が最も高いことが判明した。すなわち、終濃度0.6%(w/v)以上のクエン酸添加により、TYH1株の増殖を抑制し、ヒスタミンの蓄積を抑制することを明らかとした。

第4章では、第3章で明らかとしたクエン酸のヒスタミン蓄積抑制効果を製造現場レベルの魚味噌において検証した。その結果、魚味噌仕込み時に終濃度0.6%(w/v)のクエン酸(TYH1株に対する最少増殖阻止濃度)を添加することにより、魚味噌中のヒスタミン生成菌の増殖を抑制し、ヒスタミンの蓄積を抑制することが示唆された。ま

た、クエン酸の添加時期の違いがヒスタミン抑制効果に及ぼす影響を調べた。その結果、クエン酸の添加時期が早いほどヒスタミン生成抑制効果が大きいことが判明した。このように本章では、クエン酸の添加が魚味噌中のヒスタミンの蓄積を抑制することを実証した。さらに本章では、クエン酸の添加が魚味噌の呈味性に及ぼす影響を調べた。味覚センサーを用いて呈味性を評価した結果、クエン酸の添加時期が早いほど、対照区より酸味が弱まることが判明した。魚味噌へのクエン酸の添加は、呈味性を損ねることなく、「酸味」を和らげ、「うま味」を増強することが示唆された。この要因は、魚味噌仕込み時にクエン酸を添加することにより、魚味噌中の微生物の増殖が抑制され、微生物の代謝による乳酸や酢酸等の生成が抑制され、その添加が早いほど有機酸の蓄積量が少なくなるためと考えられた。このことから、クエン酸を所定量、所定時期に添加することは、ヒスタミンの生成を抑制するだけでなく、魚味噌の呈味調整にも利用できる可能性があると考えられた。

第2章から第4章では低利用水産資源の有効利用と廃棄物の抑制を図る検討を行ったが、有限な水産資源の枯渇を防ぐには、一方で、規格サイズの原料のみを用いた画一的な加工品を大量生産して天然資源を浪費せず、規格外サイズの原料を有効活用して天然資源の消費を抑制し、多様なニーズに応じて廃棄物（売れ残り）が出ないパラダイムへの移行を目指す必要がある。そこで、第5章では、規格外の小アジのサイズ特性を活かし、魚肉内在酵素（イノシン酸分酵素、プロテアーゼ）反応を制御した高品質な塩干品の製造技術を検討した。規格外のアジ等は、鮮度管理を適切に行えば、鮮度や品質（呈味成分等）は規格アジと変わらないだけでなく、魚体が小さいため低温管理が行いやすく（速く冷える）、また、塩漬、乾燥等の加工処理が短時間で行えることに着目した。一般に干物は寒風干しがおいしいと言われることから、低温で乾燥することにより呈味成分に差が生じるか検証した。その結果、乾燥工程において、乾燥温度が高いと苦味を呈する遊離アミノ酸の増加が顕著となることが判明した。ところが低温で乾燥させると苦味を呈する遊離アミノ酸の生成が少なく、苦味を呈する核酸関連化合物ヒポキサンチンの生成も少なくなることが判明した。これらの呈味成分の差異は乾燥時間の経過

とともに顕著となることが判明した。しかしながら、乾燥時間の短い半乾品（一夜干し）は、乾燥温度による呈味成分に大差が生じないことも判明した。一夜干しは、焙焼して食するため、焙焼後の成分に差が生じないかさらに調べた。その結果、高温で乾燥した一夜干しは、焙焼中にヒポキサンチンが多く生成・蓄積し、リジンとヒスチジンの減少が顕著であることが判明した。高温で乾燥した一夜干しの焙焼中のリジンとヒスチジンの減少要因は、高温乾燥によりイノシンが多く蓄積した結果、焙焼中にイノシンがヒポキサンチンとリボース（還元糖）に分解され、多く生成したリボース（還元糖）がリジンやヒスチジンとメイラード反応したためと推測された。ヒポキサンチンは苦味を呈し、ヒスチジンはアミノ酸との共存によりうま味を増強する。高温で乾燥した一夜干しの焙焼後のこれらの生成量は、官能評価において苦味が強く味（おいしさ）が好まれなかったことに反映することが明らかとなった。

これらの研究結果から、小アジを塩干品に加工する場合、原料の鮮度管理と乾燥工程の温度制御（低温乾燥）を行うことで高品質化が可能であることが明らかとなった。規格外サイズの小アジは、サイズが小さいため、鮮度管理が行いやすく（速く冷える）、乾燥時間が短く（速く乾く）なるメリットがあると考えられる。このことは規格サイズの干物との差別化が可能であることを示す。定置網に混獲された極めて新鮮な規格外サイズの小アジは、鮮度管理を徹底し、地元の鮮魚店やスーパーマーケットのバックヤード等で低温・短時間で乾燥させ、新鮮な干物として地元で販売・消費すれば規格サイズの量産品との差別化が図られると考えられる。高性能でコンパクトな冷風乾燥機も既に開発されている。小アジ以外にも地域独自の低利用魚を活用した高品質な製品を生産することで多種多様のニーズに応える製品を提供することが可能となる。

高品質な塩干品の地元生産、地元消費が、これまでのような画一的な塩干品の大量生産・大量消費・大量廃棄の行われた旧パラダイムから離脱して、有限な地球システムの中で持続可能な開発を行う新しいパラダイムへのシフトのきっかけとなることが期待される。

本研究の成果は、低利用性水産資源の有効活用を図るための一つの可能性を示す

ものである。有機酸による魚味噌のヒスタミン生成抑制技術については、魚醤油等、他の水産発酵調味料への応用が期待できる。本研究が水産廃棄物の発生防止、削減に繋がること、水産物の消費と生産における資源効率の改善に繋がること、そして、水産資源の持続可能な効率的な利用に繋がること、さらには減少傾向にある国民の水産物消費の増加や健康長寿社会の実現に貢献することを期待する。

謝辞

本学位論文を作成するにあたり、終始変わらぬ御懇意な御指導、御鞭撻を賜りました九州大学大学院農学研究院教授 松井利郎先生に衷心より感謝の意を表します。

本論文の取り纏めに際し、貴重な御助言を賜りました九州大学大学院システム情報科学研究院教授 都甲潔先生に心より感謝いたします。

また、本論文の審査にあたり、御校閲の労をお取りくださいました九州大学大学院農学研究院教授 下田満哉先生ならびに准教授井倉則之先生に厚く御礼申し上げます。

さらに、本研究の共同研究者として、貴重な御意見と御助言を賜りました元富山大学教授 小平憲一先生、福井県立大学教授 大泉徹先生、国立研究開発法人水産研究・教育機構中央水産研究所主任研究員 里見正隆博士、富山県農林水産総合技術センター食品研究所副主幹研究員 横井健二博士、公益社団法人富山県農林水産公社氷見栽培漁業センター所長 小善圭一氏に心より感謝申し上げます。

本研究の機会を与えてくださいました富山県農林水産総合技術センター食品研究所前所長 西岡不二男博士、今井徹博士、平野寛氏、中川秀幸氏、同副所長 中川義久氏に深く感謝いたします。

本研究の推進にあたり、御指導と御助言を賜りました株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー社長 池崎秀和博士ならびに関係各位、前近畿大学教授 川崎賢一博士に心より感謝申し上げます。また、本研究の実施にあたり、各種成分分析方法、微生物試験方法について御指導をいただきました富山県農林水産総合技術センター食品研究所職員各位に厚く御礼申し上げます。

最後に、現在に至るまで、常に私を支えてくれた家族に感謝します。

参考文献

- 1) 水産庁. 2017. 第Ⅱ章 平成 27 年度以降の我が国水産の動向. 平成 28 年度水産白書.
- 2) FAO 統計資料 : FAO. Fisheries and Aquaculture Department statistics
<http://www.fao.org/fishery/statistics/en> (2015)
- 3) 金庭正樹. 2009. 水産未利用バイオマス資源の有効利用. 日本水産学会誌, 75, 93-95.
- 4) 濱田弘之. 1997. 豊前海の小型定置網における袋網位置別投棄魚種組成. 日本水産学会誌, 63, 43-49.
- 5) 秋山清二. 2007. 館山湾の大型定置網における漁獲物の投棄実態. 日本水産学会誌, 73, 1103-1108.
- 6) 水産庁研究科編. 2001. 「低・未利用水産物を用いた新規食品素材の開発」総括報告書.
- 7) 川崎賢一, 船津保浩. 2003. 未利用水産資源の高度利用を目的とした魚醤油の開発. 日本水産学会誌, 69, 705-708.
- 8) 船津保浩. 2002. 醤油麴を用いて製造した魚醤油の風味. 日本食品科学工学会誌, 49, 1-11.
- 9) 食品と開発編. 2001. 天然調味料の市場動向.
- 10) 伊藤芳則. 2010. 魚腸骨—ここまで進んだ魚腸骨の利用. 日本水産学会誌, 76, 959.
- 11) 環境省. 2016. 第 3 章 自然の循環と経済社会システムの循環の調和に向けて. 平成 28 年版環境白書.
- 12) 水産庁. 2016. 第Ⅱ章 平成 26 年度以降の我が国水産の動向. 平成 27 年度水産白書.
- 13) 農林水産省. 2016. 第 1 章 食料の安定供給の確保に向けた取組. 平成 27 年度食

料・農業・農村白書.

- 14) 佐藤常雄, 木村 凡, 藤井建夫. 1995. 魚醤油諸味中のヒスタミン量とその関連細菌フローラ. 食品衛生学雑誌, 36, 763–768.
- 15) 藤井建夫. 2006. アレルギー様食中毒. 日本食品微生物学会雑誌, 23, 61–71.
- 16) Taira, W., Funatsu, Y., Satomi, M., Takano, T., Abe, H. 2007. Changes in extractive components and microbial proliferation during fermentation of fish sauce from underutilized fish species and quality of final products. *Fish. Sci.*, 73, 913–923.
- 17) Satomi, M. 2016. Effect of histamine-producing bacteria on fermented fishery products. *Food Sci. Technol. Res.*, 22, 1–21.
- 18) FAO, WHO. 2012. Hazard identification, In: FAO, WHO (eds) Joint FAO/WHO expert meeting on the public health risks of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products.
- 19) 三浦汀介. 2001. 水産ゼロエミッションの意味と背景. 日本水産学会誌, 67, 309–310.
- 20) 三浦汀介. 2009. 地球システムの脆弱性とゼロエミッション. 「ゼロエミッションと新しい水産科学」. (北海道出版会、北海道), pp.1–19.
- 21) 包 啓安. 1982. 醬と醤油の淵源とその生産技術について(1) 日本醸造協会誌, 7, 365–371.
- 22) 高本修作. 2005. 魚介味噌. 全国水産加工品総覧. 光琳, 219–222.
- 23) 山本晃司, 加藤丈雄, 森川 豊, 矢野未右紀, 長谷川渚, 鳥居貴佳, 深谷伊和男. 2004. 魚麴を利用した魚味噌について. 愛知県産業技術研究所研究報告, 3, 106–107.
- 24) 永瀬光俊, 勝部拓矢, 田畑光正, 杉中克昭, 山崎幸一. 2004. 未利用魚キュウリエソを用いた味噌の試醸. 島根県産業技術センター研究報告, 41, 10–12.
- 25) Giri, A., Osako, K., Ohshima, T. 2009. Extractive components and taste aspects of fermented fish pastes and bean pastes prepared using different *koji* molds as starters. *Fish.*

Sci., 75, 481–489.

- 26) 松浦 昇. 1990. 醸造副生物の利用法の研究開発と有機農業の実証, 日本醸造協会誌, 85, 219–225.
- 27) 江崎秀男. 2005. 醤油粕分画物の抗酸化素材としての有用性. 日本醸造協会誌, 100, 678–684.
- 28) 渡辺尚彦, 竹輪正彦, 高井陸雄, 酒井吉夫. 1985. 魚の骨のクッキングによる軟化速度. 日本水産学会誌, 51, 2047–2050.
- 29) 畑江敬子, 佐藤辰江, 吉松藤子. 1980. 煮魚の骨の軟化とにおいに及ぼす茶煎汁の影響. 家政学雑誌, 31, 88–93.
- 30) 畑江敬子, 大沼葉子, 島田淳子. 1990. サケ鼻軟骨のテクスチャーに及ぼす食酢浸漬の影響. 日本食品工業学会誌, 37, 505–510.
- 31) 多田耕太郎, 管野三郎. 2004. 骨軟化処理による採卵廃鶏を用いたペットフードの開発. 富山県食品研究所研究報告, 5, 25–30.
- 32) 新居佳孝, 福田和弘, 清蔭亮子, 坂井堅太郎, 山本 茂. 1997. しらす干しカルシウムの可溶化に及ぼす柑橘果汁の影響. 日本栄養・食糧学会誌, 50, 439–443.
- 33) 新居佳孝, 福田和弘, 坂井堅太郎, 小松龍史, 山本 茂. 2000. 柑橘果汁及び米酢添加がしらす干しのカルシウム可溶化と嗜好評価に与える影響. 2000. 日本食品科学工学会誌, 47, 544–547.
- 34) 「衛生試験法・注解 2005」. 2005. 日本薬学会編, (金原出版,東京), pp. 80–81.
- 35) 「新・みそ技術ハンドブック 付 基準みそ分析法」. 全国味噌技術会編, (全国味噌技術会, 東京), pp. 8–9.
- 36) 鈴木忠直, 安井明美, 杉村豊裕, 堤 忠一. 1991. 果実・野菜およびその加工品中の FAA 測定のための試料前処理方法の比較検討. 食品総合研究所研究報告, 55, 31–36.
- 37) 山口静子. 1996. 官能評価法. 「新・食品分析法」. 新食品分析法編集委員会編, (光琳, 東京), pp. 792–817.

- 38) Allen, L. H. 1982. Calcium bioavailability and absorption: a review. *Am. J. Nutr.*, 35, 783–808.
- 39) 関 英治, 箆島克裕, 松藤 寛, 松井利郎, 箆島 豊. 1995. Val-Tyr は消化管プロテアーゼ耐性なイワシ由来の ACE 阻害ペプチドである. *日本農芸化学会誌*, 69, 1013–1020.
- 40) 関 英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 箆島克裕, 玉屋 圭, 松井利郎, 箆島 豊. 1999. イワシタンパク質由来ペプチドならびに Valyl-Tyrosine の降圧作用. *日本栄養・食糧学会誌*, 50, 439–443.
- 41) 松井利郎, 川崎晃一. 2000. 食品タンパク質由来機能性ペプチドによる血圧降下作用. *日本栄養・食糧学会誌*, 53, 77–85.
- 42) 伊藤 寛. 2006. 味噌の成分. 「新・みそ技術ハンドブック」. 全国味噌技術会編, (全国味噌技術会, 東京), pp. 131–157.
- 43) 道島俊英, 佐渡康夫, 榎本俊樹. 1998. イシル (魚醬) に関する研究 (第 2 報) イワシイシルの生成過程におけるアミノ酸などの消長. *石川県工業試験場研究報告*, 47, 67–72.
- 44) 門脇 清. 1988. *日本醸造協会誌*. 「醤油の科学と技術」. 柄倉辰六郎編, (日本醸造協会, 東京), pp. 121–151.
- 45) 藤波博子, 望月 務, 佐川 巖, 毛利光之. 1983. 品温経過温度を異にした遊離グルタミン酸, グルタミン, ピログルタミン酸の消長 味噌の熟成に関する研究 (第 1 報). *日本醸造協会誌*, 78, 466–474.
- 46) 藤井建夫, 松原まゆみ, 伊藤慶明, 奥積昌世. 1994. いか塩辛熟成中のアミノ酸生成における微生物の関与について. *日本水産学会誌*, 60, 265–270.
- 47) 山中英明, 塩見一雄, 菊池武昭, 奥積昌世. 1984. 赤身魚の貯蔵中におけるヒスタミンの消長. *日本水産学会誌*, 50, 695–701.
- 48) 藤井建夫. 2005. 水産食品の品質保持～アレルギー様食中毒を中心に～. *月刊フードケミカル*, 9, 43–49.

- 49) Sato, T., Fujii, T., Masuda, T. Okuzumi, M. 1994. Changes in numbers of histamine–metabolic bacteria and histamine content during storage of common mackerel. *Fish. Sci.*, 60, 299–302.
- 50) Sato, T., Okuzumi, M., Masuda, T. Fujii, T. 1995. Distribution and genus/species composition of histamine–decomposing bacteria during storage of common mackerel. *Fish. Sci.*, 61, 83–85.
- 51) Konagaya, Y., Kimura, B., Ishida, M., Fujii, T. 2002. Purification and properties of a histidine decarboxylase from *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium. *J. Appl. Microbiol.*, 92, 1136–1142.
- 52) Kimura, B., Konagaya, Y., Fujii, T. 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, 70, 71–77.
- 53) Fujii, T., Ishida, Y., Kadota, H. 1978. Consumption of trimethylamine by molds in salted fish during storage at low temperature. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 44, 39–43.
- 54) Fukami, K., Funatsu, Y., Kawasaki, K., Watabe, S. 2000. Improvement of fish–sauce odor by treatment with bacteria isolated from the fish–sauce mush (moromi) made from frigate mackerel. *J. Food Sci.*, 64, 45–49.
- 55) 森本京三, 吉和哲朗, 坂本宏司, 赤野裕文, 石川行弘. 2007. *Eurotium herbariorum* による魚醤油の臭気改善. 広島県立総合技術研究所食品工業技術センター研究報告, 24, 1–8.
- 56) Silla Santos, M. H. 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29, 213–231.
- 57) Taylor, S. L. 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Critical Reviews in Toxicology*, 17, 91–128.
- 58) Codex Alimentarius Commission. <http://www.codexalimentarius.org> (2014)
- 59) Hernandez–herrero, M. M., Roig–Sagues, A. X., Rodriguez–Jerez, J. J., Mora–Ventura, M.

- T. 1999. Halotolerant and halophilic histamine forming bacteria isolated during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *J. Food Prot.*, 62, 509–514.
- 60) Yatsunami, K., Echigo, M. 1993. Changes in the number of halotolerant histamine-forming bacteria and contents of nonvolatile amines in sardine meat with addition of NaCl. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Nippon Suisan Gakkaishi)*, 59, 123–127.
- 61) De Las Rivas B., Rodríguez, H., Carrascosa, A. V., Muñoz, R. 2008. Molecular cloning and functional characterization of a histidine decarboxylase from *Staphylococcus capitis*. *J. Appl. Microbiol.*, 104, 194–203.
- 62) Landeta, G., De las Rivas, B., Carrascosa, A.V., Munoz, R. 2007. Screening of biogenic amine production by coagulase-negative staphylococci isolated during industrial Spanish dry-cured ham processes. *Meat Sci.*, 77, 556–561.
- 63) Silla Santos, M. H. 1998. Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spanish fermented meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 39, 227–230.
- 64) Suzzi, G., Gardini, F. 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 88, 41–54.
- 65) Tsai, Y. H., Chang, S. C., Kung, H. F. 2007. Histamine contents and histamine-forming bacteria in natto products in Taiwan. *Food Control*, 18, 1026–1030.
- 66) 上井恵理, 寺田 岳, 秋山純基, 一色賢司. 2011a. 精油成分蒸気を用いたヒスタミン産生菌の制御. *食品衛生学雑誌*, 52, 276–280.
- 67) 上井恵理, 寺田 岳, 秋山純基, 一色賢司. 2011b. 好塩性ヒスタミン産生菌の天然由来抗菌物質を用いた制御. *食品衛生学雑誌*, 52, 315–320.
- 68) Satomi, M., Furushita, M., Oikawa, H., Yoshikawa-Takahashi, M. Yano, Y. 2008. Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in *Tetragenococcus halophilus* isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, 126, 202–209.
- 69) Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J. 1991. 16S ribosomal DNA

- amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.*, 173, 697–703.
- 70) Allison, C., MacFarlane, G. T. 1989. Influence of pH, nutrient availability, and growth rate on amine production by *Bacteroides fragilis* and *Clostridium perfringens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 2894–2898.
- 71) Chander, H., Batish, V. K., Babu, S., Singh, R. S. 1989. Factors affecting amine production by selected strain of *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food. Sci.*, 54, 940–942.
- 72) Molenaar, D., Bosscher, J. S., Brink, B. ten., Driessen, A.J., Konings, W.N. 1993. Generation of a proton motive force by histidine decarboxylation and electrogenic histidine/histamine antiport in *Lactobacillus buchneri*. *J. Bacteriol.*, 175, 2864–2870.
- 73) Halasz, A., Barath, A., Simon–Sakardi, L., Olzapfel, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.*, 5, 42–49.
- 74) Kloos, W. E., Schleifer, K. H. 1986. Genus IV. *Staphylococcus* Rosenbach 1884, 18AL. In: Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., Holt, J. G. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Williams and Wilkins Co., Baltimore. pp. 1013–1035.
- 75) 山本 泰, 東 和夫, 好井久雄. 1984. 有機酸類の抗菌性. 日本食品工業学会誌, 31, 525–530.
- 76) 松田敏生, 矢野俊博, 丸山昌弘, 熊谷英彦. 1994. 有機酸類の抗菌作用—各種 pH における最小発育阻止濃度の検討—. 日本食品工業学会誌, 41, 687–702.
- 77) 木村メイコ, 舊谷亜由美, 福井洋平, 柴田由起, 根井大介, 矢野 豊, 里見正隆. 2015. 魚醤油発酵時のヒスタミン蓄積に関わる原因菌の同定および乳酸菌発酵スターター摂取によるヒスタミン蓄積抑制効果について. 日本水産学会誌, 81, 97–106.
- 78) 山田 潤, 徳永智子, 梨本亜希, 稲森美奈子, 松田秀喜. 2011. 鰹だし添加による酸味・酸臭抑制効果の検証. 日本調理科学会誌, 44, 122–127.
- 79) 台蔵昌子. 1999. 食品の官能検査. 「食品学総論」. 荒井綜一編, (樹村房,東京), pp. 183–184.

- 80) Fukui, Y., Yoshida, M., Shozen, K., Funatsu, Y., Takano, T., Oikawa, H., Yano, Y. Satomi, M. 2012. Bacterial communities in fish sauce mash using culture-dependent and -independent methods. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 58, 273–281.
- 81) 中村愛美, 佐藤文華, 吉田 智, 熊谷昌則, 鈴木靖志. 2010. とろみ調整食品添加に伴う味質変化の味覚センサによる評価. 日本食品科学工学会誌, 57, 380–388.
- 82) Brown, M.H., I.R. Booth. 1991. Acidulants and low pH, In: Food preservatives vol. 3, Russell, N.J., G.W. Gould, (ed.), AVI Van Nostrand Reinhold, New York, USA. pp. 22–43.
- 83) Kanbe, C. and Uchida, K. 1982. Diversity in the Metabolism of Organic Acids by *Pediococcus halophilus*. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 2357–2359.
- 84) 神戸千幸, 内田金治. 1983. 醤油乳酸菌 *Pediococcus halophilus* による L-リンゴ酸から L-乳酸への変換. 日本農芸化学会誌, 57, 1211–1218.
- 85) 堀 信一, 小川鉄雄, 青木良平, 近藤安弘, 太田泰弘. 1956. 醤油中の L-グルタミン酸の消長について (第 1 報) 醤油中の L-グルタミン酸の形態及び生成機構について. 日本農芸化学会誌, 30, 519–523.
- 86) 飯塚庚一, 後安正夫. 1973. しょうゆ諸味中におけるアルギニンの分解に関する研究. 調味科学, 20, 17–24.
- 87) 内田金治. 1982. 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, 77, 740–742.
- 88) 内田金治. 1991. 醤油・味噌の耐塩性乳酸菌. 乳酸菌研究集談会誌, 2, 58–62.
- 89) 都甲 潔. 1995. 味覚センサー. 日本化学会誌, 5, 334–342.
- 90) Toko, K. 1996. Taste sensor with global selectivity. *Materials Sci. Eng.: C*, 4, 69–82.
- 91) 都甲 潔. 2001. 脂質膜を用いた味覚センサー. 膜 (MEMBRANE), 26, 244–250.
- 92) 都甲 潔. 2002. 人の舌を超えた味覚センサー. 日本耳鼻咽喉科学会会報, 105, 1–7.
- 93) 戸井田仁一, 蟻川幸彦. 2011. 味覚センサー (感性評価解析装置) によるみそ, しょうゆの評価. 長野県工業技術センター研究報告, 6, 159–162.

- 94) 浜島教子. 1976. 味の相互関係について (第2報) 塩から味と酸味の関係. 家政学雑誌, 27, 255-261.
- 95) 田口和子, 松田秀人, 後藤英夫. 1988. 実用調味濃度レベルでの基本味質の混合効果. 名古屋文理短期大学紀要, 13, 1-15.
- 96) 大島敏明. 2005. 乾製品. 「水産食品の加工と貯蔵」小泉千秋・大島敏明編, (恒星社厚生閣), pp. 93-128.
- 97) 田中和夫. 1960. わが国の水産物の乾燥および乾燥機の現状. 真空, 4, 105-114.
- 98) 太田 隆, 荒瀬和義. 2013. 冷風乾燥装置. 「新版 第6版 冷凍空調便覧 第IV巻 食品・生物編」. 公益社団法人 日本冷凍空調学会 冷凍空調便覧改訂委員会編, (公益社団法人日本冷凍空調学会, 東京), pp. 584-590.
- 99) 滝口明秀. 2012. 干物の科学, 月刊アクアネット. 12, 20-25.
- 100) 藤田孝夫, 橋本芳郎. 1960. 食品のイノシン酸含量-III 各種水産食品. 日本水産学会誌, 26, 907-910.
- 101) 飯田 遥, 中村弘二, 徳永俊夫. 1993. マアジ塩乾品の品質に及ぼす原料鮮度と乾燥条件の影響. 中央水産研究所研究報告, 5, 1-8.
- 102) 小西史子, 香西みどり, 畑江敬子. 2002. 天日乾燥あるいは温風乾燥によって調製されたスルメエキスの呈味成分の変化. 日本家政学会誌, 53, 15-22.
- 103) 鴻巣章二, 橋本芳郎. 1959. かつお節製造中の遊離アミノ酸の変化. 日本水産学会誌, 25, 307-311.
- 104) 鈴木敏博, 本杉正義. 1994. かつお節エキス成分の焙乾工程中の変化. 日本食品工業学会誌, 41, 550-556.
- 105) Chiou, T. K., Chang, H. K., Lo, L., Lan, H. L. Shiau, C. Y. 2000. Changes in chemical constituents and physical indices during processing of dried-seasoned squid. *Fish. Sci.*, 66, 708-715.
- 106) 滝口明秀. 2014. 干物概論. 「干物の機能と科学」. 滝口明秀・川崎賢一編, (朝倉書店), pp. 1-18.

- 107) 小屋敷一雄. 2013. 干物. 養殖ビジネス. 2013 年臨時増刊号, pp. 19–22.
- 108) 堤 忠一, 安井明美, 平田芳明. 1996. 一般成分および関連成分. 「新・食品分析法」. 新・食品分析法編集委員会編, (光琳, 東京), pp. 5–118.
- 109) 堤 忠一. 1982. 食塩および塩素. 「食品分析法」. 食品分析法編集委員会編, (光琳, 東京), pp. 363–384.
- 110) 鈴木忠直. 1996. アミノ酸組成の定量法. 「新・食品分析法」. 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編, (光琳, 東京), pp. 493–507.
- 111) 原田恭行, 熊谷敬之, 小善圭一, 横井健二. 2012. 異なる餌料で養殖したアワビ F1 交雑種の肉質の比較. 日本水産学会誌, 78, 945–950.
- 112) 川北兵蔵, 山田光江. 1975. 食品の官能検査に適した手法. 「食品の官能検査」. (医歯薬出版株式会社, 東京), pp. 32–68.
- 113) 日科技連官能検査委員会. 1973. 「新版 官能検査ハンドブック」. 日科技連官能検査委員会編, (日科技連出版社, 東京), pp. 249–634.
- 114) 松田眞一, 永田 靖. 1990. 多重比較における新たな検出力の提案と各手法の特徴比較. 応用統計学, 9, 93–113.
- 115) 「五訂増補 日本食品標準成分表」. 2005. 科学技術・学術審議会, 資源調査分科会編, (独立行政法人国立印刷局, 東京), pp. 136–137.
- 116) 村田道代, 安藤正史, 坂口守彦. 1995. 魚肉の鮮度とおいしさ. 日本食品科学工学会誌, 42, 462–468.
- 117) 大泉 徹. 2014. 干物の科学. 「干物の機能と科学」, 滝口明秀・川崎賢一編, (朝倉書店), pp. 40–73.
- 118) 中野俊樹, 伊藤恵真, 中川孝之, 永山文男. 1990. 魚介類筋肉のイノシン分解酵素の特性. 日本水産学会誌, 56, 633–639.
- 119) 江平重男, 内山 均. 1967. ヒラメ氷蔵中におけるリボースの消長について. 日本水産学会誌, 33, 136–140.
- 120) 内山 均, 江平重男. 1970. 核酸関連化合物からみた魚類鮮度化学研究の現状. 日

- 本水産学会誌, 36, 977–992.
- 121) 内山 均. 1971. 魚類鮮度研究の現状とその応用. 食品衛生学会誌, 12, 267–276.
- 122) アミノ酸ハンドブック編集局. 2003. アミノ酸の呈味. 「アミノ酸ハンドブック」.
味の素株式会社編, (工業調査会, 東京), pp. 44–51.
- 123) Makinodan, Y., Ikeda, S. 1976. Studies on fish muscle protease–VI Separation of carp muscle cathepsins A and D, and some properties of carp muscle cathepsin A. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 42, 239–247.
- 124) 豊水正道. 1967. 魚肉の褐変. 日本水産学会誌, 33, 894–899.
- 125) 滝口明秀. 1992. 煮干しいわしの室温および低温貯蔵中における脂質酸化および褐変. 日本水産学会誌, 58, 489–494.
- 126) 小櫛満里子, 原田禄郎. 1997. 干しあごと焼きあごのエキス成分の比較. 日本栄養・食糧学会誌, 50, 295–301.
- 127) 鴻巣章二. 1973. 魚貝類の味 –呈味成分を中心にして–. 日本食品工業学会誌, 20, 38–45.
- 128) 浜島教子. 1981. 味の相互関係について (第5報) 甘味と苦味の関係. 家政学会誌, 32, 156–161.
- 129) Pangborn, R. M., 1960. Taste interrelationships, *Food Research*, 25, 245–256.
- 130) Suyama M., Maruyama M., Takeuchi S. 1970. Chemical composition of the extracts of whale meat and its change during condensation, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 36, 1250–1257.
- 131) Tsai, C. H., Kong, M. S., Pan, B. S. 1991. Activity and temperature effects on nonenzymic browning of amino acids in dried squid and simulated model system. *J. Food Sci.*, 56, 665–670.