



Title	サケいずしの化学的, 微生物学的性状に及ぼす原料サケの酢漬処理の影響
Author(s)	佐々木, 政則; 川合, 祐史; 吉水, 守; 信濃, 晴雄
Citation	日本水産学会誌, 71(3), 369-377 https://doi.org/10.2331/suisan.71.369
Issue Date	2005-05-15
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/53377
Rights	© 2005 公益社団法人日本水産学会; © 2005 The Japanese Society of Fisheries Science
Type	article
File Information	article124.pdf



[Instructions for use](#)

サケいずしの化学的、微生物学的性状に及ぼす 原料サケの酢漬処理の影響

佐々木政則,^{1*} 川合祐史,² 吉水 守,² 信濃晴雄³

(2004年10月1日受付, 2004年12月24日受理)

¹北海道立釧路水産試験場, ²北海道大学大学院水産科学研究科,
³北海道立工業技術センター

Effects of pre-pickling of salmon fillets on the chemical and
microbiological characteristics of salmon *Izushi*

MASANORI SASAKI,^{1*} YUJI KAWAI,² MAMORU YOSHIMIZU² AND HARUO SHINANO³

¹Hokkaido Kushiro Fisheries Experimental Station, Kushiro, Hokkaido 085-0027, ²Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ³Hokkaido Industrial Technology Center, Hakodate, Hokkaido 041-0801, Japan

The effects of pre-pickling chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fillets with vinegar on the chemical and microbiological characteristics of *Izushi* (cured and fermented fish meat) were investigated during the ripening process at about 5°C. During the ripening process of *Izushi* prepared with pickled fillets, microbial counts did not significantly increase, the pH values remained below pH 5.3, and organic acids were mostly the acetic acid of the vinegar. In contrast, in *Izushi* prepared with non-pickled fillets, aerobic bacteria, lactic acid bacteria, and yeast obviously increased during the ripening. Lactic acid was produced and the pH declined from 6.4 to 4.9 during ripening. Consequently, the main organic acid in the non-pickled *Izushi* was lactic acid. Also, free amino acids remarkably increased during the ripening of the non-pickled *Izushi*. Regardless of the pre-pickling process, the *Izushi* reached an acceptable state by ripening for 36 d and had similar microflora. During the ripening process, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and *Saccharomyces cerevisiae* became the dominant groups of lactic acid bacteria and yeast, respectively.

キーワード：サケいずし, 仮酢漬け, 熟成, 有機酸, 遊離アミノ酸, 微生物相, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Saccharomyces cerevisiae*

1951年5月岩内郡島野村においてニシンいずしによる食中毒が発生して以来, 現在までに北海道で発生したボツリヌス中毒は58件¹⁾で, その原因食品の大半は自家製のいずしと切り込みであり, 市販品が原因となったのはニシン切り込みとハタハタいずしの2例のみである。²⁾

いずしによる食中毒の発生例を見ると, 9月や10月に漬け込みを行うなど比較的温暖な時期に製造した, 水晒し日数が長い, 原料の鮮度が悪い, 製造環境が不衛生であるなどの問題点があげられる。ボツリヌス中毒は, いずしの中でボツリヌスE型菌が増殖する時に生成する毒素を食べることによって起こるため, 安全ないずし

を造るためには, ボツリヌスE型菌を制御する必要がある。すなわち, ボツリヌスE型菌は, 土壌細菌の一種で, 北海道では海岸や河川など水に関わりの深い地域に主に芽胞として分布し, 魚が汚染されると, 室温で3日後に毒素を産生する。また, 発育最低温度は3.3°Cで, pH 5.0~5.5以下または塩分5%以上では増殖できない。³⁻⁵⁾

温度条件とpHの制御によるいずし中のボツリヌスE型菌の毒素産生阻止について, 唐島田ら⁶⁾は, 毒素は魚の水晒し中と熟成中に産生されると考え, 水晒し中の毒素産生阻止には水温を5°C前後の低温に保ち頻回に水を変える必要があると報告している。また, 神沢ら⁷⁾はい

ずしの pH と毒素産生阻止について、原料魚は新鮮なものに限り、水晒しは水温を 5°C 以下に保ち、魚肉 1 貫目 (3.75 kg) に対して酢酸 15 cc を用いることを推奨している。すなわち、安全なはずしを商業生産するためには、原料魚の鮮度の吟味、魚肉の低温水晒し、魚肉の仮酢漬け処理が必要と考えられている。しかしながら、これまで原料魚肉の酢漬け処理とはずしの熟成様式や製品品質との関連性についてはほとんど明らかにされていない。

前報⁸⁾では、北海道において商業生産で採用されている仮酢漬けと低温熟成を基本としたはずしの熟成様式の実態を把握するため、シロサケ肉を主原料としたはずしを製造し、原料の前処理過程と漬け込み後、低温熟成過程における化学成分と微生物相を検討した。その結果、はずしは漬け込み 35 日以降に食用可能となり、有機酸の主体は酢酸であり、熟成中の pH は 5 以下を維持した。また、熟成中に細菌数の著しい増加はなかったが、一般細菌では *Bacillus* 属、乳酸菌では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*、酵母では *Debaryomyces hansenii* が優勢であることを報告した。

本報では、原料魚肉の仮酢漬け処理がはずしの熟成様式と製品品質におよぼす影響を明らかにするため、原料魚の仮酢漬け処理時間の異なる 3 区分のサケいずしを対象として、低温 (5°C 前後) での熟成過程における有機酸や遊離アミノ酸の消長と微生物相の変化について検討した。

実験方法

サケいずしの製造方法 サケいずしの製造方法は、前報⁸⁾と同様に、北海道余市沖で漁獲されたシロサケ (*Oncorhynchus keta*) を用いて作成した。なお、本報のサケいずしの原料の配合割合は、サケ切り身 5,000 g に対して、米飯 2,000 g (40%)、米麴 200 g (4%)、温湯 200 g (4%)、にんじん 500 g (10%)、しょうが 100 g (2%)、とうがらし 25 g (0.5%)、食塩 250 g (5%)、砂糖 100 g (2%)、食酢 250 g (5%)、清酒 250 g (5%)、みりん 100 g (2%) とした。

試験区分は、ドレス状態で -25°C・30 日間凍結貯蔵後、解凍してフィレーとし、これを 15% の食塩で散塩漬けた塩蔵サケを用い、30% 重量の食酢に 10 分間仮酢漬けたものを I 区、30% 重量の食酢に漬けて直ちに水切りしたものを II 区、仮酢漬け処理を行わなかったものを III 区とした。3 区分のはずしとも樽に漬け込み、2 日間は発酵・熟成を促進するために 5.0~10.2°C の部屋の中に加圧しないで置き、その後は冷蔵室に移し、19 日間は 5~7°C で 8 kg の荷重で加圧し、その後の 31 日間は 3.5~7.5°C で 16 kg の荷重で加圧して熟成を進め、経時的に官能的観察を行った。熟成終了時には容器

を逆さにして水を切った後、加圧 (50 kg, 4 時間) してさらに水分を除いて製品とした。なお、製品歩留りは、I 区では 65.1%、II 区では 65.6%、III 区では 71.9% であった。

サケいずしの熟成過程における化学的、微生物学的変化を明らかにするため、漬け込み 2 日後、19 日後、36 日後、51 日後 (製品) に樽の中層部からはずしを一部取り出し、魚肉部と副原料部 (米飯・麴・野菜など) に分けて、各種化学成分分析と微生物分析に供した。なお、はずし原料の水晒し肉、仮酢漬け肉、米飯・麴類および野菜類についても同様の分析を行った。また、熟成中に採取したはずしの魚肉部、副原料部の外観、味、香り、テクスチャーとともに、はずし上澄液の色調、香り、被膜の生成状況を観察した。

化学成分分析 樽から取り出したはずしの魚肉部と副原料部の各 100 g を細切・混合して、前報⁸⁾と同様の方法で、水分量、塩分量、pH、揮発性塩基窒素 (VB-N) 量、有機酸量を測定した。また、エキス態窒素 (E-N) は試料の 10% トリクロル酢酸抽出濾液をケルダール法で測定した。試料の 80% エタノール抽出液から脂溶性成分をクロロホルムで除去後、*o*-フタルアルデヒド-次亜塩素酸法による反応液体クロマトグラフィーで遊離アミノ酸組成を分析した。¹⁰⁾ なお、アンセリンとヒスチジンのピークは完全に分離できなかったため、アミノ酸総量は魚肉部ではアンセリンとして算出した。

微生物分析 樽から取り出したはずしの魚肉部と副原料部を無菌的に採取し、9 倍量の滅菌リン酸緩衝液 (pH 7.2) を加えてホモジナイザーで均質化し、前報⁸⁾と同様の方法で、乳酸菌を除く一般細菌 (以降、単に一般細菌と表記)、乳酸菌、酵母の生菌数を測定した。なお、一般細菌数と乳酸菌数は、一般細菌、乳酸菌検出用平板から分離した菌株において、グラム陽性、カタラーゼ陰性のものを乳酸菌としてそれぞれの菌数の値を補正して決定した。また、一般細菌、乳酸菌および酵母は、それぞれ生菌数測定時における最適希釈平板から無作為に 30 以上の集落を釣菌後、純粋分離を行い、同定を試みた。

結果

はずし熟成過程の観察結果 漬け込み 2 日後では、各区分とも芳香はあるが、魚肉・麴・野菜類は未熟であった。漬け込み 7 日後になると、II 区と III 区は被膜を生成した。漬け込み 19 日後では、I 区と II 区は魚肉の色・香りは良いが、塩味がやや強く、野菜類はやや熟成不足で、III 区の魚肉は鮮紅色を呈して粘着性があった。漬け込み 36 日後では、I 区は被膜を生成し、はずし特有の甘酸っぱい芳香を呈し、I 区と II 区の魚肉は甘塩っぱく、身締りしていたが、III 区の魚肉は軟かった。漬け

込み 51 日後の製品いずしでは、各区分ともいずし特有の芳香を呈したが、やや塩味を感じ、I 区と II 区の肉質には退色と脆さが認められたが、III 区では淡鮮紅色を呈して生々しさが残り、あっさりした味で酸臭が感じられた。

いずし製造工程における各種化学成分の変化 製造工程および熟成中の化学成分組成を Table 1 に示した。漬け込みに用いた魚肉の pH は、仮酢漬け時間の長いもので低くなり、10 分間の仮酢漬けを行った I 区では 4.9、瞬間的な仮酢漬けを行った II 区では 5.4、仮酢漬けを行わなかった III 区では 6.4 であった。熟成過程についてみると、仮酢漬け処理を行った I 区と II 区の pH は、魚肉部、副原料部の pH はそれぞれわずかに低下と上昇の傾向を示したものの、大きく変動せず、熟成期間を通して

pH 5.3 以下を維持した。一方、仮酢漬け処理を行わなかった III 区の pH は、魚肉部では熟成 2 日後から熟成 19 日後では 5.9~5.7 であったが、熟成 36 日後から熟成 51 日後の製品いずしでは 5.0~4.9 へ低下し、また、副原料部でも 5.1 から 4.9 へ低下した。VB-N は、魚肉部・副原料部ともに、熟成過程で増加傾向を示したが、魚肉の仮酢漬け時間が長い試料区で VB-N の増加程度は抑制された。魚肉部の水分については、熟成中にわずかな減少傾向が認められた。塩分は、各区分とも魚肉部では 3.0~4.1 g/100 g、副原料部では 3.1~4.6 g/100 g であった。

いずし製造工程における魚肉部の有機酸の変化を Table 2 に示した。熟成直前の仮酢漬け肉の酢酸と有機酸総量は、酢漬け処理時間の長い I 区ではそれぞれ

Table 1 Chemical characteristics of *Izushi* prepared with pickled salmon fillets

	Ripening period (d)	pH	VB-N (mg/100 g)	E-N (mg/100 g)	Moisture (g/100 g)	Salt (g/100 g)	
Soaked fish meat		6.4	2.4	182	79.8	1.9	
Pickled fish meat for 10 min		4.9	3.1	301	76.1	1.9	
for a moment		5.4	2.9	242	75.0	2.0	
Group I	Fish meat	2	5.0	3.1	278	68.9	3.0
		19	4.8	4.8	344	66.8	3.7
		36	4.8	7.0	433	66.9	3.9
		51	4.9	9.1	520	66.2	4.0
		Sub-materials	2	4.8	2.5	111	— ^a
		19	5.1	4.5	316	72.8	3.9
		36	5.1	8.9	439	72.2	4.4
		51	5.1	9.1	520	71.1	4.4
Group II	Fish meat	2	5.1	3.2	259	68.9	3.8
		19	5.0	5.0	344	67.3	3.7
		36	5.0	8.5	427	65.7	3.6
		51	4.9	12.2	493	65.5	3.3
		Sub-materials	2	4.8	2.9	120	69.5
		19	5.2	5.2	283	70.7	4.0
		36	5.3	9.2	389	71.6	4.6
		51	5.1	14.6	503	70.4	3.6
Group III	Fish meat	2	5.9	3.2	222	71.8	—
		19	5.7	6.4	300	66.3	4.1
		36	5.0	16.8	361	66.6	4.0
		51	4.9	24.4	509	67.1	4.0
		Sub-materials	2	5.1	3.1	130	70.0
		19	—	6.9	155	73.2	4.4
		36	5.0	21.4	261	71.9	4.2
		51	4.9	30.0	509	73.4	4.0

Groups I, II and III were prepared with salmon fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively.

Sub-materials were boiled rice, koji, and cut vegetables, which had been tiered in a barrel together with fish meat.

VB-N: volatile basic nitrogen.

E-N: extractive nitrogen.

^a — : not determined.

Table 2 Organic acid compositions of fish meat portion in *Izushi* prepared with pickled salmon fillets (mg/100 g)

	Ripening period (d)	Acetic acid	Lactic acid	Others ^a	Total
Fish meat					
pickled for 10 min		381	127	2	510
pickled for a moment		223	143	2	368
Group I	19	289	27	2	318
	51	321	34	2	357
Group II	19	249	33	2	284
	51	304	49	2	355
Group III	19	100	63	2	165
	51	166	481	4	651

Groups I, II and III were prepared with fish fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively.

^a Others were comprised of succinic acid and malic acid.

381, 510 mg/100 g で、II 区の 223, 365 mg/100 g より多かった。熟成 19 日後の酢酸と有機酸総量はそれぞれ I 区で 289, 318 mg/100 g, II 区で 249, 284 mg/100 g, III 区で 100, 165 mg/100 g の順に多かったが、乳酸量は逆に III 区 63 mg/100 g, II 区 33 mg/100 g, I 区 27 mg/100 g の順となった。熟成 51 日後の製品いずれの有機酸総量は、仮酢漬け処理のない III 区が 651 mg/100 g と多く、その 74% が乳酸であったが、仮酢漬け処理を行った I 区・II 区ではそれぞれ、357, 355 mg/100 g で、その 90%, 86% が酢酸であった。

19 日間熟成後および 51 日間熟成後製品のいずれも魚肉部の遊離アミノ酸組成を Table 3 に示した。いずれの区分の熟成 19 日後のアミノ酸総量は 760~790 mg/100 g で、アンセリン, リジン, ロイシン, アルギニン, アラニン, グルタミン酸など 19 種類のアミノ酸が認められた。その後、各種の遊離アミノ酸は増加傾向を示し、熟成 51 日後の製品いずれの遊離アミノ酸総量は、仮酢漬け処理を行わなかった III 区が 1383 mg/100 g と最も多かった。その間の増加量の多いアミノ酸は、アラニン, リジン, グルタミン酸, ロイシンなどであった。

いずし製造工程における生菌数の変化 いずしの漬け込みに用いた魚肉と副原料および熟成過程におけるそれらの一般細菌, 乳酸菌, 酵母の菌数の変化を Table 4 に示した。

いずしの漬け込みに用いた魚肉の一般細菌数, 乳酸菌数, 酵母の数は、それぞれ I 区では 1.6×10^2 , $< 3.0 \times 10^2$, $< 3.0 \times 10^2$ CFU/g, II 区では 3.8×10^2 , $< 3.0 \times 10^2$, $< 3.0 \times 10^2$ CFU/g, III 区では 2.6×10^3 , 5.9×10^2 , 4.0×10^2 CFU/g, であった。したがって、原料魚肉の

Table 3 Free amino acid compositions of fish meat portion in *Izushi* prepared with pickled salmon fillets (mg/100 g)

Amino acid	Group I		Group II		Group III	
	19 d	51 d	19 d	51 d	19 d	51 d
Taurine	14.5	17.5	14.4	14.8	16.9	17.4
Aspartic acid	18.5	33.0	19.7	30.7	24.9	36.7
Glutamine	47.8	66.3	39.6	55.0	45.8	68.3
Threonine	27.3	54.3	22.4	43.8	20.2	52.6
Serine	19.0	36.7	19.2	33.1	24.1	40.5
Glutamic acid	46.4	90.7	44.1	78.3	40.0	104.5
Proline	12.5	23.9	16.1	25.5	12.1	24.9
Glycine	12.4	21.6	12.4	21.6	14.0	37.2
Alanine	38.9	71.6	38.0	76.1	45.9	118.2
Valine	26.4	50.0	25.7	47.5	32.3	70.5
Methionine	25.4	45.2	30.0	55.0	31.5	56.9
Isoleucine	24.5	49.9	25.2	49.2	27.4	59.5
Leucine	63.5	111.3	58.2	96.6	55.1	109.4
Tyrosine	29.0	56.3	26.5	46.3	27.7	48.7
Phenylalanine	28.9	49.5	27.8	44.5	27.2	53.3
Ornithine	2.2	2.3	2.6	8.4	2.2	27.2
Lysine	76.3	134.1	69.4	116.6	64.5	133.0
Anserine ^a	206.5	255.0	218.0	224.4	229.1	266.2
Arginine	55.1	95.7	54.5	89.7	47.2	57.9
Total	775.1	1264.9	763.8	1157.1	788.1	1382.9

Groups I, II and III were prepared with fish fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively.

^a Anserine + histidine

仮酢漬け処理によって、各種微生物の生菌数が減少する傾向が見られた。また、副原料部の米飯・麴と野菜類については、それぞれ一般細菌数は 3.6×10^5 , 2.0×10^6 CFU/g, 乳酸菌数は 6.6×10^5 , 7.3×10^4 CFU/g, 酵母数は 2.2×10^5 , 3.6×10^5 CFU/g であった。

いずしの熟成過程において、一般細菌数は、I 区では副原料部が $2.1 \times 10^7 \sim 3.4 \times 10^7$ CFU/g, 魚肉部では $1.1 \times 10^6 \sim 1.7 \times 10^6$ CFU/g であり、熟成中の増加は見られなかった。II 区では魚肉部が $1.2 \times 10^6 \sim 2.2 \times 10^6$ CFU/g で変化はほとんどなかったが、副原料部は 3.7×10^6 CFU/g から 1.2×10^8 CFU/g へ増加傾向を示し、III 区では魚肉部は 5.3×10^5 CFU/g から 3.4×10^7 CFU/g へ、副原料部も 1.2×10^7 CFU/g から 4.5×10^8 CFU/g へそれぞれ増加した。乳酸菌数も、I 区ではほとんど変化せず、副原料部は $2.6 \times 10^7 \sim 3.5 \times 10^7$ CFU/g で、魚肉部は 1.1×10^6 CFU/g $\sim 1.6 \times 10^6$ CFU/g であった。II 区の魚肉部は $2.3 \times 10^6 \sim 5.1 \times 10^6$ CFU/g で変化はほとんどなく、副原料部は 1.4×10^7 CFU/g から 2.5×10^8 CFU/g へわずかに増加傾向を示し、III 区では魚肉部は 8.1×10^5 CFU/g から 7.6×10^7 CFU/g へ、副原料部も 1.5×10^7 CFU/g から 8.4×10^8 CFU/g へそれぞれ増加した。酵母数は、I 区, II 区で熟成中の増加は見られず、副原料部は $1.6 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^8$ CFU/g, 魚肉部は $7.3 \times 10^5 \sim 2.6 \times 10^6$ CFU/g であった。III 区では魚肉部

Table 4 Microbial counts of *Izushi* prepared with pickled salmon fillets (CFU/g)

		Ripening period (d)	Aerobic bacteria	Lactic acid bacteria	Yeast
Fish meat					
	pickled for 10 min		1.6×10^2	$< 3.0 \times 10^2$	$< 3.0 \times 10^2$
	pickled for a moment		3.8×10^2	$< 3.0 \times 10^2$	$< 3.0 \times 10^2$
	non-pickled		2.6×10^3	5.9×10^2	4.0×10^2
Sub-materials					
	Boiled rice & koji		3.6×10^5	6.6×10^5	2.2×10^5
	Vegetables		2.0×10^6	7.3×10^4	3.6×10^5
Group I	Fish meat	2	1.1×10^6	1.6×10^6	1.3×10^6
		19	1.7×10^6	1.3×10^6	1.2×10^6
		36	— ^a	1.1×10^6	1.2×10^6
		51	1.2×10^6	1.6×10^6	7.3×10^5
Sub-materials		2	2.1×10^7	3.0×10^7	3.6×10^7
		19	—	2.6×10^7	2.5×10^7
		36	3.4×10^7	3.5×10^7	—
		51	—	3.0×10^7	3.0×10^7
Group II	Fish meat	2	1.2×10^6	2.3×10^6	2.6×10^6
		19	2.2×10^6	2.4×10^6	2.4×10^6
		36	1.9×10^6	4.8×10^6	1.7×10^6
		51	1.3×10^6	5.1×10^6	2.0×10^6
Sub-materials		2	3.7×10^6	1.4×10^7	1.6×10^7
		19	1.1×10^7	3.6×10^7	3.7×10^7
		36	1.2×10^8	2.5×10^8	1.2×10^8
		51	9.0×10^7	5.9×10^7	3.1×10^7
Group III	Fish meat	2	5.3×10^5	8.1×10^5	9.8×10^5
		19	1.3×10^6	3.0×10^6	3.3×10^6
		36	1.1×10^7	1.2×10^7	3.7×10^6
		51	3.4×10^7	7.6×10^7	2.8×10^7
Sub-materials		2	1.2×10^7	1.5×10^7	1.2×10^6
		19	3.7×10^7	3.4×10^7	4.0×10^6
		36	4.5×10^8	8.4×10^8	1.1×10^7
		51	4.2×10^8	4.3×10^8	5.7×10^7

Groups I, II and III were prepared with fish fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively.

Sub-materials were boiled rice, koji, and cut vegetables, which had been tiered in a barrel together with fish meat.

^a — : not determined.

は 9.8×10^5 CFU/g から 2.8×10^7 CFU/g へ、副原料部も 1.2×10^6 CFU/g から 5.7×10^7 CFU/g へそれぞれ増加した。なお、I 区の熟成 36 日後の副原料部においては、酵母検出平板から酵母は分離できなかった。

すなわち、各グループの微生物とも、熟成中は常に副原料部の菌数が魚肉部と比較してわずかに多く、I 区では、副原料部、魚肉部とも、熟成に伴う変化は小さかった。また、II 区では、副原料部のみが熟成に伴って菌数の増加傾向を示した。一方、仮酢漬け処理を行わなかった III 区では、両部位の一般細菌数は熟成に伴って明らかに増加した。

いずし熟成工程における一般細菌相の変遷 熟成過程におけるサケいずしの各部位から、一般細菌は 54 株分離され、そのうち、35 株はグラム陽性の有芽胞桿菌で

あり、これらを *Bacillus* 属と同等した。その他、15 株が *Micrococcus* 属、3 株が *Staphylococcus* 属、1 株が *Arthrobacter* 属に包含される菌株であった。図には示さないが、漬け込みに用いた魚肉には、I 区では *Staphylococcus* 属 (50%)、*Bacillus* 属 (19%)、*Micrococcus* 属 (19%)、*Flavobacterium* 属 (12%)、II 区では *Staphylococcus* 属 (67%)、*Arthrobacter* 属 (33%)、III 区では *Staphylococcus* 属 (50%)、*Bacillus* 属 (50%) の細菌が認められた。また、米飯・麴類では *Bacillus* 属 (38%)、*Staphylococcus* 属 (38%)、*Micrococcus* 属 (24%)、野菜類には *Bacillus* 属 (33.3%)、*Micrococcus* 属 (33.3%)、*Corynebacterium* 属 (33.3%) の細菌が認められた。熟成過程においては、各区分の魚肉部、副原料部ともに、漬け込みの当初は、原料に由来する多様な細菌が認められ

たが、熟成 36 日以降になると *Bacillus* 属のみが検出された。熟成中の一般細菌相に対する酢漬け処理の影響はほとんど認められなかった。

いずし熟成工程における乳酸菌相の変遷 熟成過程におけるサケいずしの各部位から乳酸菌は総計 366 株分離され、そのうち、206 株は、グラム陽性、カタラーゼ陰性、グルコースを発酵して酸とガスを産生し、スクロースから酸を生成しないヘテロ発酵型乳酸球菌であり、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* に同定された。その他、39 株が *Leuconostoc oenos*, 21 株が *Leuconostoc lactis*, 11 株が *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 9 株が *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 1 株が *Leuconostoc paramesenteroides*, 2 株が *Leuconostoc* 属, 45 株が *Streptococcus* 属, 19 株が *Lactobacillus* 属, 13 株が *Pediococcus* 属に同定された。図には示さないが、漬け込みに用いた魚肉には、仮酢漬け処理区 (I, II 区) からは乳酸菌は分離できなかったが、酢漬け処理していない III 区では *Streptococcus* 属 (40%), *Lactobacillus* 属 (40%), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (20%) が認められ、米飯・麴類では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (61%), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (23%), *Leuconostoc oenos* (8%), *Streptococcus* 属 (8%), 野菜類では *Streptococcus* 属 (50%), *Lactobacillus* 属 (25%), *Pediococcus* 属 (25%) が認められた。

サケいずし熟成過程における乳酸菌の菌相の変化を Fig. 1 に示した。I 区の魚肉部では、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 38~68% を占め、このほかに熟成 2 日後と熟成 19 日後では *Leuconostoc* 属の 3 種と *Streptococcus* 属, *Pediococcus* 属, *Lactobacillus* 属が、熟成 36 日後と熟成 51 日後の製品いずしでは *Leuconostoc* 属の 3 種と *Lactobacillus* 属の乳酸菌が認められた。副原料部でも *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 26~61% を占め、このほかに熟成 2 日後から熟成 36 日後では *Leuconostoc* 属の 3 種と *Streptococcus* 属, *Pediococcus* 属, *Lactobacillus* 属が、51 日後の製品いずしでは *Leuconostoc* 属の 2 種と *Lactobacillus* 属の乳酸菌が認められた。II 区は、魚肉部と副原料部ともに、熟成 2 日後から 51 日後の製品いずしでは *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 46~100% を占めた。III 区の魚肉部は、熟成 2 日後から熟成 36 日後までは *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 14~71% を、ホモ発酵型乳酸球菌 *Streptococcus* 属が 7~57% を占めたが、熟成 51 日後の製品いずしでは *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 56% となった。副原料部も同様に、熟成 2 日後から 36 日後では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 29~77% を、*Streptococcus* 属が 6~53% を占めたが、熟成 51 日後の製品

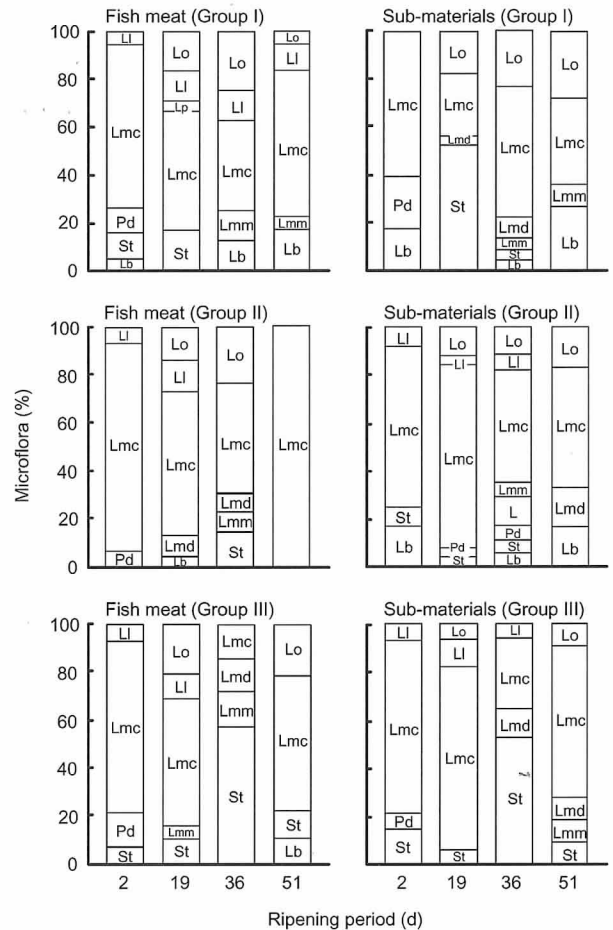


Fig. 1 Lactic acid bacterial flora of salmon *Izushi* during the ripening process. Groups I, II and III were prepared with salmon fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively. Sub-materials were boiled rice, koji, and cut vegetables, which had been tiered in a barrel together with fish meat. Columns: Lmc, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (206); Lo, *Leuconostoc oenos* (39); Ll, *Leuconostoc lactis* (21); Lmd, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (11); Lmm, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (9); Lp, *Leuconostoc paramesenteroides* (1); L, *Leuconostoc* sp. (2); St, *Streptococcus* sp. (45); Lb, *Lactobacillus* sp. (19); Pd, *Pediococcus* sp. (13). The numbers of isolates are represented in parentheses.

いずしでは *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 64% となった。すなわち、各区分ともに、漬け込みの当初は、原料に由来する乳酸菌が認められ、熟成 51 日後の製品いずしでは *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が優勢種となった。また、酢漬け処理をしなかった魚肉を使用した III 区では *Leuconostoc* 属のほかに *Streptococcus* 属も比較的後期 (熟成 51 日) まで認められた。

いずし熟成工程における酵母の菌相の変遷 熟成過程

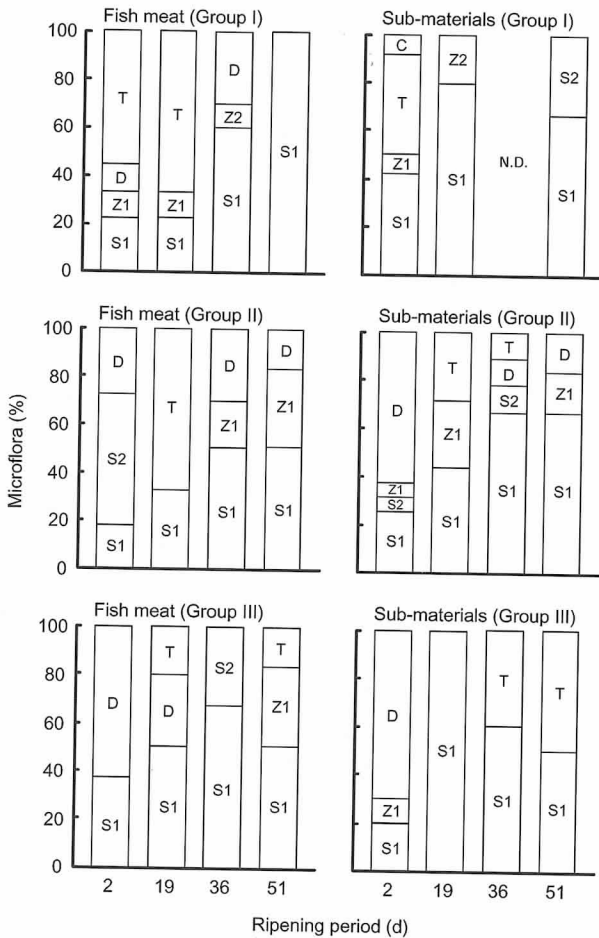


Fig. 2 Yeast flora of salmon *Izushi* during the ripening process. Groups I, II and III were prepared with salmon fillets pickled in vinegar for 10 min, pickled in vinegar for a moment and without pickling in vinegar, respectively. Sub-materials were boiled rice, koji, and cut vegetables, which had been tiered in a barrel together with fish meat. Columns: S1, *Saccharomyces cerevisiae* (83); S2, *Saccharomyces pastorianus* (11); Z1, *Zygosaccharomyces bisporus* (17); Z2, *Zygosaccharomyces rouxii* (3); D, *Debaryomyces hansenii* (39); T, *Torulasporea globosa* (34); C, *Candida* sp. (1). The numbers of isolates are represented in parentheses. N.D.: not determined.

におけるサケいずしの各部位から酵母は総計188株分離され、そのうち、83株が *Saccharomyces cerevisiae* に、11株が *Saccharomyces pastorianus*、17株が *Zygosaccharomyces bisporus*、3株が *Zygosaccharomyces rouxii*、39株が *Debaryomyces hansenii*、34株が *Torulasporea globosa*、1株が *Candida* 属に同定された。図示していないが、漬け込みに用いた魚肉には、I区では *Rhodotorula* 属 (78%)、*Sporobolomyces* 属 (11%)、*Saccharomyces* 属 (5.5%)、*Zygosaccharomyces bisporus* (5.5%)、II区では *Rhodotorula* 属 (75%)、*Zygosaccharomyces bisporus* (19%)、*Saccharomyces cerevisiae* (6%)、III区では *Rhodotorula* 属

(100%)の酵母が認められた。また、米飯・麴類では *Zygosaccharomyces bisporus* (65%)、*Rhodotorula* 属 (17%)、*Candida* 属 (12%)、*Saccharomyces cerevisiae* (6%)、野菜類では *Rhodotorula* 属 (60%)、*Zygosaccharomyces bisporus* (20%)、*Candida* 属 (20%) が認められた。

サケいずし熟成過程における酵母の菌相の変化を Fig. 2 に示した。I区の魚肉部では、熟成2日後と熟成19日後は *Torulasporea globosa* が56~67%を、熟成36日後と熟成51日後の製品いずしは *Saccharomyces cerevisiae* が60~100%を占めた。I区の副原料部では、熟成2日後は *Torulasporea globosa* と *Saccharomyces cerevisiae* のほかに *Candida* 属と *Zygosaccharomyces bisporus* が、熟成19日後と熟成51日後の製品いずしは *Saccharomyces cerevisiae* が80~67%を占めた。II区の魚肉部では、熟成2日後は *Saccharomyces pastorianus* が54%、熟成19日後は *Torulasporea globosa* が67%を、熟成36日後と51日後の製品いずしでは *Saccharomyces cerevisiae* が50%を占めた。II区の副原料部では、熟成2日後では *Debaryomyces hansenii* が63%を、熟成19日後から51日後の製品いずしでは *Saccharomyces cerevisiae* が43~67%を占めた。すなわち、熟成51日後のII区の製品いずしでは、魚肉部・副原料部ともに、*Saccharomyces cerevisiae* の他に *Zygosaccharomyces bisporus* と *Debaryomyces hansenii* が占めた。III区は、魚肉部と副原料部ともに、熟成2日後では *Debaryomyces hansenii* が63~70%であったが、熟成19日後から熟成51日後の製品いずしでは *Saccharomyces cerevisiae* が50~100%を占めた。熟成51日後のIII区の製品いずし（魚肉部）では *Saccharomyces cerevisiae* の他に *Torulasporea globosa* と *Zygosaccharomyces bisporus* が占めた。すなわち、各区分ともに、漬け込みの当初は、原料に由来する多様な酵母が認められたが、熟成36日以降になると *Saccharomyces cerevisiae* がほぼ優勢種となった。

考 察

いずしの熟成過程の観察結果から、いずれの試料区分ともいずし特有の芳香を呈した漬け込み36日後に食用可能になったと考えられたが、III区は肉質が柔く、さらに熟成が必要と判定した。漬け込み51日後の製品いずしでは、I区とII区では酢漬け処理の影響として肉質の脆弱化と肉色の退色が認められ、一方、III区では急激なpHの低下が起こらなかったため、肉色は淡紅色が良好に維持されたが、肉質は柔く、身締まりに欠けたといえる。下村ら¹¹⁻¹³はカマスサワラとマサバの筋肉について、食塩と酢酸や食酢で処理すると、食塩とそれらの共同作用により、硬さと脆さを生ずると報告し、これには筋肉中の酸性プロテアーゼ（カテプシンD）による筋肉タンパク質の分解およびコラーゲン繊維の脆弱化が大

きく関与することを明らかにしている。牧之段ら¹⁴⁾もいずしと類似したタイプの発酵食品であるふなずしの熟成について、筋肉カテプシンDの関与を認めている。サケ肉の酸性化による肉質の脆化についても、基質タンパク質を含む筋肉タンパク質の自己消化酵素による分解のほか、酸によるタンパク質の凝集・変性による保水性の低下¹⁵⁾などに起因すると考えられる。

サケ肉の色調は脂溶性のカロテノイド色素(アスタキサンチン)に由来し、通常は筋原繊維タンパク質に疎水的に結合している。¹⁶⁾ 筋肉組織の酸性化によるタンパク質の凝集あるいは変性はまた、組織を白っぽく変化させるため、サケ肉特有の淡紅色が見かけ上退色すると推測される。

3区分の製品いずし(熟成51日後)の遊離アミノ酸総量は1160~1380 mg/100 gの範囲にあり、角野ら¹⁷⁾の市販いずしの調査結果より多かった。また、Ⅲ区の製品いずしでは、仮酢漬け処理を行わないことで熟成中に微生物や魚肉由来のプロテアーゼやペプチダーゼが順調に働いたためか、アミノ酸総量は最も多かった。サケ筋肉中には、カテプシンL, D, B等のプロテアーゼ、ペプチダーゼが含まれ、特にカテプシンLが産卵期サケ筋肉の軟化に関わることが明らかにされている¹⁸⁾が、酢漬け処理をしない魚肉を用いたⅢ区はいずしの熟成において実際に作用しているプロテアーゼのタイプについては不明である。

ボツリヌス中毒を防止するためには、熟成初期にできるだけ速やかにpHを低下させる必要がある。神沢ら⁶⁾は、酢酸を加えてpHを4.4~6.6に調整したブイヨンにボツリヌスE型菌を接種して27°Cで10日間放置した場合、pH 5.4以下では毒素を産生しないと報告している。原料魚肉の仮酢漬け処理は、あらかじめpHを低下させることによってボツリヌス毒素の産生を阻止することを目的としており、仮酢漬け処理を行ったⅠ区・Ⅱ区では、これまでの報告⁸⁾と同様に、熟成過程において魚肉部、副原料部はpH 5.3以下を維持し、短時間の酢漬け処理でもpH低下効果は認められた。一方、同処理を行わなかったⅢ区では、乳酸発酵によるpH低下が見られ、熟成36日以降にpH 5.0以下に達したが、漬け込み直後から19日後まで魚肉部のpHは5.7以上で推移したため、ボツリヌス中毒の防止のためにはより適切な発酵条件を見出す必要がある。

紅サケでいずしを造る例では、特に色調を大切にするため、仮酢漬け処理を行わないことがあり、この場合、乳酸発酵を促し速やかにpHを低下させる必要がある。そのためにはいずし製造における乳酸菌スターターの利用効果についても検討する必要がある。

熟成中における有機酸総量の変化をみると、熟成19日後ではⅠ区>Ⅱ区>Ⅲ区の順で、仮酢漬け処理時間の

長い区分の有機酸総量が多く、仮酢漬けによる酢酸が主体であった。しかし、熟成51日後の製品いずしの有機酸総量は、Ⅲ区が最も多く、特に乳酸の増加が顕著であった。すなわち、仮酢漬け処理を行ったⅠ区とⅡ区の製品いずし有機酸総量の81~90%は酢酸であったが、同処理を行わなかったⅢ区では、有機酸総量の74%を乳酸が占め、乳酸発酵が進行したことを明示している。さらに、熟成2日後から熟成51日後の製品いずしの一般細菌数、乳酸菌数、酵母の数は、仮酢漬け処理を行ったⅠ区とⅡ区では大きな変化を示さなかったが、仮酢漬け処理を行わなかったⅢ区では熟成中に増加し、食酢による仮酢漬け処理がいずし熟成過程における微生物の増殖に大きな影響を与えていることが確認された。

仮酢漬け処理の有無にかかわらず、漬け込み当初は原材料に由来すると考えられる微生物が多く認められたが、熟成が進むとともに微生物相は単純化され、一般細菌では*Bacillus*属、酵母では*Saccharomyces cerevisiae*、熟成乳酸菌では*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*が熟成51日後の製品いずしの段階までに優勢となった(Figs. 1, 2)。仮酢漬け処理を行わなかったⅢ区はいずしでは、乳酸菌や酵母が増殖し、それらによる発酵がいずしの風味醸成に大きく寄与していると考えられる。またⅢ区では、*Streptococcus*属が熟成36日後に菌相の50%近くを占めており、本属も製品の品質に関与している可能性がある。

漬け物の熟成では、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*はヘテロ型の乳酸発酵球菌でグルコースから乳酸のほかにエタノールや炭酸ガスを生成し、生成した乳酸は塩辛味を柔らかげるとともに、その酸味で独特の風味を醸し出すとともに有害菌の発育を抑制している。¹⁹⁾ また、*Saccharomyces cerevisiae*もグルコースを分解してエタノールと炭酸ガスや副産物を生成し、それによって風味を良くする働きをしていると考えられている。¹⁹⁾ キムチの熟成に関係する乳酸菌としては*Leuconostoc mesenteroides*が重要であり、²¹⁾ 生成した炭酸ガスが水に溶けると爽やかな味になり、この清涼感がキムチの風味に影響していると考えられている。²¹⁾ さらに、温度が低いほど炭酸ガスは水によく溶けるため、キムチは低温下で漬け込むほど美味しいというのはこのことに起因していると考えている。いずしは、朝鮮のキムチの日本型で、野菜より魚の方が主となったものと考えられており、²²⁾ キムチと同様に、熟成過程で生成した炭酸ガスが水に溶けて、その風味の醸成に重要な役割を果たしているものと考えられる。

本報では、仮酢漬け処理条件の異なる3区分のいずしを対象として、仮酢漬け処理がいずしの発酵様式と製品品質に及ぼす影響について検討した。仮酢漬け処理を行うと、前報⁸⁾と同様、熟成中に菌数の著しい増加は認

められず、製品いずしの主要有機酸は酢酸であった。一方、仮酢漬け処理を行わない場合、乳酸菌と酵母は熟成中に増加し、乳酸発酵により製品いずしの主要有機酸は乳酸となった。しかしながら、本実験条件(Ⅲ区)のように低温で自然に乳酸発酵の進行を期待する伝統的製法では、魚肉部のpHの低下が遅いため、ボツリヌス中毒の危険性を考慮しなければならない。このため、より安全ないずしの製造方法としては、できるだけ速やかに魚肉部のpHを低下させる必要があり、短時間であっても食酢でスライス魚肉を浸漬する処理はpH低下効果があり、有効であると考えられる。

謝 辞

本研究を行うに当たり、実験に協力頂いた北海道立中央水産試験場元職員、小野塚 馨氏、秀里尊寿氏、川島孝省氏、北海道立釧路水産試験場飯田訓之氏に対して、深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 北海道保健福祉部食品衛生課. 平成14年度食品衛生関係事業概要・食中毒事件録, 北海道保健福祉部食品衛生課, 札幌. 2004; 80-81.
- 2) 相川孝史, 亀山邦男, 武士甲一, 三田村 弘, 本間寛. 北海道で発生したボツリヌス中毒例について(1980年). 道衛研報 1990; 40: 74-75.
- 3) 横関源延, 藤井建夫. 食品におけるボツリヌス菌の増殖と毒生成. 日食工誌 1977; 24: 420-431.
- 4) 飯田広夫. 「食中毒の話」北海道大学図書刊行会, 札幌. 1982; 2-21, 62-91.
- 5) 伊藤 武, 坂井千三. ボツリヌス食中毒の予防. 微生物 1985; 1: 31-41.
- 6) 唐島田 隆, 女鹿晃道, 栗城篤治, 柳瀬 蓼, 杉井孝雄, 小笠原和夫, 安藤和夫. 「いずし」中におけるボツリヌスE型菌の毒素産生阻止に関する研究(第1報). 道衛研報 1956; 特報 5: 17-23.
- 7) 神沢謙三, 飯田広夫. 「いずし」中におけるボツリヌスE型菌の毒素産生阻止に関する実験的研究(第2報). 道衛研報 1957; 8: 33-38.
- 8) 佐々木政則, 川合祐史, 吉水 守, 信濃晴雄. サケいずしの熟成過程における化学成分と微生物相の変化. 日水誌 2004; 70: 928-937.
- 9) 佐々木政則. 安全で美味しいいずしを造りましょう. 北水試だより 1989; 5: 1-7.
- 10) 辻 浩司, 川合祐史, 麻生真悟. ツガルウニアルコール添加塩辛の貯蔵中における遊離アミノ酸組成および脂質成分の変化について. 北水試月報 1985; 42: 280-292.
- 11) 下村道子, 常木 悦, 板橋文代, 松本重一郎. カマスサワラの酢漬におけるテクスチャーとタンパク質の変化. 調理科学 1984; 17: 105-112.
- 12) 下村道子, 松本重一郎. しめさば処理における魚肉の物性とタンパク質の変化. 日水誌 1985; 51: 583-591.
- 13) 下村道子. 魚肉の調理・加工におけるテクスチャーとタンパク質の変化. *New Food Industry* 1987; 29: 55-70.
- 14) 牧之段保夫, 中川孝之, 藤田真夫. ふなずしの熟成における筋肉カテプシンDの関与. 日水誌 1991; 57: 1911-1916.
- 15) Kawai Y, Nakasato T, Hatano M. Effect of heat-treatment on the water holding capacity of mature chum salmon muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992; 58: 1193.
- 16) Henmi H, Hata M, Hata M. Astaxanthin and/or canthaxanthin-actomyosin complex in salmon muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1989; 55: 1583-1589.
- 17) 角野 猛, 日野明子, 金成朋恵, 会田久仁子, 角野幸子, 山田幸二. いずしおよび切り込みの細菌汚染, 食塩濃度, 水分活性および遊離アミノ酸組成について. 日調科誌 1997; 30: 31-36.
- 18) 山下倫明. 産卵期サケの肉質軟化機構に関する研究. 日水誌 1994; 60: 439-442.
- 19) 有藤和雄. 「新食品微生物学」農業図書, 東京. 1985; 30-130.
- 20) 崔 善圭. キムチ製造の科学(鄭 大聲編訳). 食の科学 1993; 189: 70-75.
- 21) 宮尾茂雄. バイオテクノロジーの進展と, これからの漬物. 食品と開発 1986; 21: 48-49.
- 22) 篠田 統. 「すしの本」柴田書店, 東京. 1966; 40-41.