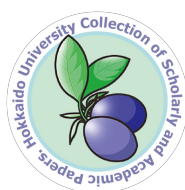




Title	サケいずしの熟成過程における化学成分と微生物相の変化
Author(s)	佐々木, 政則; 川合, 祐史; 吉水, 守 他
Citation	日本水産学会誌, 70(6), 928-937 https://doi.org/10.2331/suisan.70.928
Issue Date	2004-11-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53376
Rights	© 2004 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	article120.pdf



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

佐々木政則,^{1*} 川合祐史,² 吉水 守,² 信濃晴雄³

(2003年11月14日受付, 2004年5月13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Changes in chemical composition and microbial flora
of salmon *Izushi* during the ripening processMASANORI SASAKI,^{1*} YUJI KAWAI,²
MAMORU YOSHIMIZU² AND HARUO SHINANO³¹Hokkaido 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

Changes in the organoleptic, chemical, and microbiological characteristics of the salmon *Izushi* were investigated during the pre-treatment and ripening process at around 5°C. Organoleptically, *Izushi* became acceptable to eat by ripening for 35 d and subsequently became most suitable to eat ripening for 44 d because of the emergence of a specific *Izushi* flavor. Ripening proceeded uniformly in the entire *Izushi*. During the ripening process, pH values of the fish and sub-material portions of *Izushi* remained below pH 5.0. Organic acids in *Izushi* were mostly acetic acid due to pickling and vinegared rice. Microbial counts of *Izushi* did not significantly increase during the ripening process. As to the microbial flora of *Izushi*, *Bacillus* sp. became the dominant aerobic bacteria by ripening periods of longer than 14 d, and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and *Debaryomyces hansenii* were dominant for groups of lactic acid bacteria and yeast, respectively, after ripening for 35 d or longer.

キーワード: サケいずし, 熟成, 有機酸, 微生物相, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Debaryomyces hansenii*

いずしは、伝統的に北海道や東北地方において、冬期間に製造される保存食品であり、正月用の料理として賞用されてきた。主原料としてはサケを始めとしてニシン、カレイ、ハタハタ、ホッケ、イカなどが使用されている。製造方法は、魚肉を水晒し後、米飯、麴、野菜類、食酢、酒などの調味料とともに漬込み、発酵・熟成させて造る。いずしは、寒冷期に造るため、米飯の糖化を早め発酵を促進するために麴を加え、魚の生臭みを和らげるために、にんじん、だいこん、きゅうり、きゃべつなどの野菜の繊維切り、しょうが、とうがらし、さんしょう、ゆずなどの香辛料を加える。製品は魚肉と米飯、野菜類と一緒に食べる。

しかしながら、いずしは低塩分で水分の多い食品のため、常温では貯蔵性に欠け、秋口や春先など暖かい時期に漬け込んだ自家製のいずしではボツリヌス食中毒が心

配される。このため、漬け込みや貯蔵中の微生物制御が重要であると考えられ、いずしの商業生産においては、加工場などの衛生管理はもちろん、できるだけ新鮮な原料魚を用い、野菜類は充分洗浄し、水晒しは5°C以下の水道水で短時間に終了し、仮酢漬け処理を行い、漬込みには新鮮な麴を用い、速やかに漬込みを完了し、低温熟成させるという製法上の工夫によって、より安全ないずしの製造が図られている。

いずしは元来各家庭で造られていた食品のため、地域や人によっても製法が異なり、加工法も経験に基づく伝統的技術によることが多い。そのため、化学的・微生物学的な特徴や製造原理についての研究例は少ない。これまで、吉村^{1,2)}のホッケとイカイずしの品質と漬汁の変化についての報告や、唐島田ら³⁾、神沢、飯田⁴⁾のボツリヌスE型菌の毒素産生阻止についての研究、角野ら⁵⁾

の市販いずしについての調査, 阿部, 露木^{6,7)}のハタハタすしの漬込み中の化学成分変化についての報告がみられるにすぎない。

伝統食品としての馴れすし類は, 熟成過程において乳酸発酵を伴い, それによって風味の醸成と有害微生物の制御が図られているが, 今日商業的に採用されている仮酢漬けと低温熟成を製法の基本とするいずし製品の熟成機構については完全に明らかにされていない。そこで本報では, サケいずしを対象として, 原料の水晒し・仮酢漬け処理と5℃前後の低温での熟成過程における有機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 サケいずしは, 北海道立水産試験場の方法⁸⁾に従い作製した (Fig. 1)。すなわち, 主原料のサケ (*Oncorhynchus keta*) は北海道余市沖で漁獲後, ドレス状態で凍結貯蔵したものを解凍してフィレーとし3~5℃の水道水 (流水) で3日間水晒しを行った。その後, 半凍結状態としたものを6~9 mm厚の切り身とし, 3℃の流水で2時間水晒し後脱水し, 30%重量の食酢で10分間仮酢漬けを行い, 水切りしたものを漬込み用魚肉とした。魚肉以外の副原料については, 野菜は良く洗って皮を除去し, にんじん, しょうがは繊維切りに, きゅうりとレモンは輪切りに, とうがらしはみじん切りにしたものを用いた。米飯・麴は, 炊飯後に酢合わせを行って放冷した米飯に, あらかじめ40℃温水で20分間浸漬処理しておいた麴を混合し, 5℃で1時間放冷したものを用いた。調味料類は食酢, 酒, みりん, 食塩, 砂糖を用いたが, 砂糖は液体調味液に溶解して使用した。

漬込みは, 容器 (外径25 cm×30 cm, 木製樽) の底に笹の葉を敷き, 魚肉, 米飯と麴, 野菜類を入れ, 混合

調味料と食塩を散布する工程 (Fig. 2) を5層に分けて繰り返し, 最後に上部を充分な笹の葉で覆った。いずれの樽も2日間は発酵・熟成を促進するため6~12℃の室の中に加圧しないで置き, その後は冷蔵庫に移し, 14日間は3.7~5℃で8 kgの荷重で加圧し, その後の30日間は2.6~5℃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 (53.4 kg, 4時間) してさらに水分を除いて製品とした。詳細な原材料の配合割合は Table 1 に示した。なお, 加圧脱水後に得られた

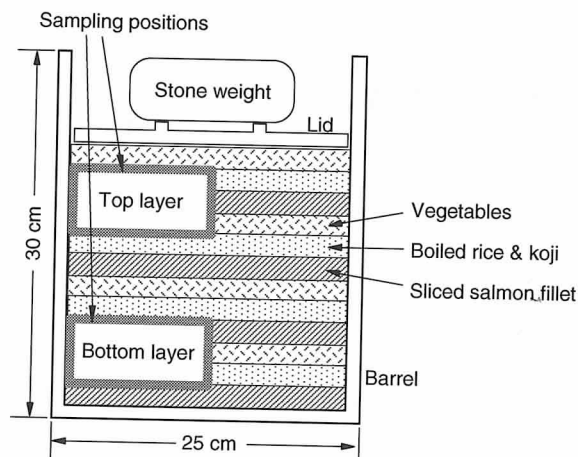


Fig. 2 Schematic diagram of barreled materials for the ripening of the salmon *Izushi* and sampling positions in the barrel for analyses.

Table 1 Materials for preparation of the salmon *Izushi* in a barrel

Materials	Weight (g)
Salmon fillet	3,650
Sub-materials	
Boiled rice	1,560
Rice koji	145
Hot water	145
Carott	395
Cucumber	245
Ginger	95
Lemon	233
Red pepper	27
Salt	190
Suger	73
Vinegar	320
Sake (rice wine)	100
Mirin (sweet sake)	80
Total	7,258

Yield of the *Izushi* product after ripening and drainage was 4,200 g for a barrel.

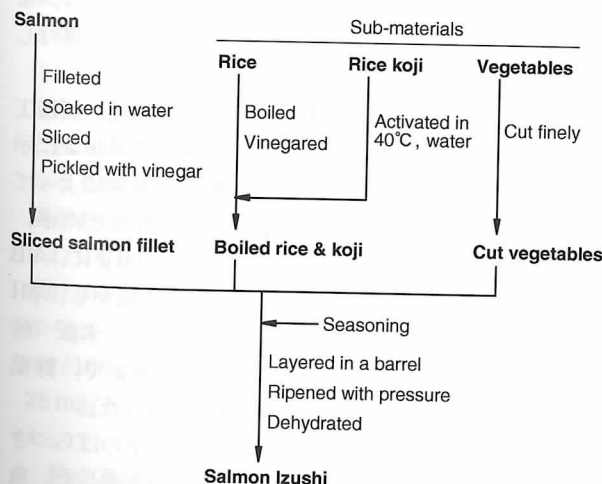


Fig. 1 Preparation of salmon *Izushi*.

いずし製品は4.2 kgで、製品歩留りは57.9%であった。

サケいずしは4樽漬込み、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、漬込み2日後、14日後、35日後、44日後にそれぞれ一樽ずつを以下の試験に供した。樽の内容物を縦に4等分して、その1区画の上層部と下層部 (Fig. 2) からいずしを取り出し、魚肉部と副原料部 (野菜、米飯・麴など) に分けて各種分析に供した。また、いずし原料のサケ肉と野菜類、米飯・麴、およびサケ肉の前処理工程における水晒し脱水肉、仮酢漬け肉についても分析を行った。

官能検査 熟成中のいずし上澄液の色調、香り、被膜の生成状況を観察するとともに、分析・測定試料として採取したいずしの魚肉部と副原料部 (米飯・麴、野菜など) の色調、味、香り、硬さについて官能判定した。

各種化学成分の定量 樽から取り出したいずしの魚肉部と副原料部 (野菜・米飯・麴など) の各100 gを細切・混合して以下の分析に供した。水分は105°C常圧加熱乾燥法、粗脂肪はジエチルエーテルによるソックスレー抽出法、粗灰分は550°C直接灰化法によって定量し、粗タンパク質はセミマイクロ・ケルダール法で求めた窒素量に6.25を乗じて算出した。⁹⁾ また、試料を9倍量の蒸留水とともにホモジナイズし、その濾液を用いて、pHは日立堀場F7型pHメーターで直接測定し、揮発性塩基窒素 (VB-N) はConwayの微量拡散吸収法、¹⁰⁾ 食塩は硝酸銀によるMohrの直接滴定法⁹⁾ で定量した。有機酸は熱水抽出した有機酸をブチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィーで分析した。¹¹⁾

生菌数の測定 樽から取り出したいずしの上層部・下層部の魚肉部と副原料部約10 gを滅菌ピンセットを用いて無菌的に採取し、9倍量の滅菌リン酸緩衝液 (PBS) を加えてホモジナイザーで均質化し、各種菌数の測定を行った。一般細菌数は、標準寒天培地 (日水製薬) を用いて混釈平板培養 (30°C, 2~3日間) を行い、生成したコロニーを計数することにより求めた。乳酸菌は一般乳酸菌保存検出用培地 (日水製薬) にCaCO₃を0.5%懸濁した寒天平板で混釈培養 (25°C, 2~3日間) を行い、培地透明化を伴うコロニーを計数した。さらに、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生菌数値を補正し、乳酸菌を除く一般細菌数 (以降、単に一般細菌と表記) と乳酸菌数を決定した。酵母は、滅菌10%酒石酸でpH 4.5に調整したポテトデキストロース寒天培地 (日水製薬) を用い混釈平板培養 (20°C, 3日間) を行い、生菌数を測定した。

分離菌株の同定 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20以上の集落を釣菌後、純粋分離を行い、同定試験に供した。一般細菌は、Shewanら¹²⁾ および駒形¹³⁾ の簡易

スキームに準拠し、コロニーの色調と形態、菌体の形状配列、グラム染色、芽胞染色、鞭毛染色、懸滴標本による運動性検査、OF試験、3-ketolactoseの生成試験、オキシダーゼ試験、カタラーゼ試験の結果に基づいて属レベルまで同定した。また、乳酸菌の場合は、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology¹⁴⁾ および内村、岡田¹⁵⁾ の同定ダイアグラムに従って、グラム陽性、カタラーゼ陰性のものを乳酸菌とし、菌体の形状配列とガス産生の有無、発育温度、pHおよび食塩耐性、糖発酵性に基づいて、*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* の6属に大別し、さらに主要なものは種レベルまでの同定を試みた。また、酵母は、芽胞、出芽形式、および、液体培地における被膜、リング、沈殿物生成の有無、糖発酵試験と糖同化試験 (グルコース、ガラクトース、スクロース、マルトース、ラクトース)、硝酸塩 (KNO₃) 同化試験を行い、The Yeast (第4版)¹⁶⁾ の記載に従って種レベルまで同定した。

結 果

いずし熟成過程の官能検査結果 漬込み2日後、冷蔵庫へ移して加圧熟成を開始した時点では、漬汁は黄色で濁りが認められたが、芳香を呈し、魚肉と米飯・麴は熟成不足で、野菜類は生に近かった。漬込み14日後では、漬汁は黄色透明となり、いずし特有の芳香を発生した。試食結果では、魚肉は熟成不足で、野菜類はきゅうりを除き生々しかったが、香りは良く、旨味も感じられた。漬込み21日後では、漬汁は黄色透明で芳香を有し、白色の被膜が発生した。漬込み35日後では、魚肉はやや酸味が感じられたが、米飯・麴は軟化し、野菜類も馴れており、上層部・下層部ともに食用可能な状態になった。漬込み44日後では、魚肉の酸味は弱まって旨味も増し、米飯・麴・野菜類の甘みが増強され、いずし特有の風味が生成し、食用に最適な状態になった。また、熟成は上層部、下層部にかかわらず全体的に進行していた。

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いずしの化学成分組成をTable 2に示した。前処理工程では、水晒しと仮酢漬け処理によって水分は67.5 g/100 gから75.8 g/100 gに増加したが、粗タンパク質は23.6 g/100 gから18.6 g/100 gに、VB-Nは12.6 mg/100 gから4.2 mg/100 gに減少し、pHは6.32から4.70に低下した。副原料として、米飯 (酢飯) 麴類のpHは4.20、水分は60.8 g/100 gで、野菜類のpHは5.30、水分は92.3 g/100 gであった。

熟成過程における化学成分の変化は、若干のばらつきはあるが、上層部・下層部ともに同一傾向を示した。魚肉部のpHは4.90から4.51へ低下傾向を示したが、副

Table 2 Proximate compositions of the ripened salmon *Izushi*

Items	Ripening period (d)	pH	VB-N (mg/100 g)	Moisture (g/100 g)	Protein (g/100 g)	Lipid (g/100 g)	Ash (g/100 g)	Salt (g/100 g)
Raw fish meat		6.32	12.6	67.5	23.6	—	—	—
Soaked fish meat		6.40	3.6	74.8	21.0	2.5	1.0	0.1
Pickled fish meat		4.70	4.2	75.8	18.6	2.4	1.5	0.1
Boiled rice and koji		4.20	2.1	60.8	—	0.1	0.4	0.2
Vegetables		5.30	2.5	92.3	—	—	0.8	0.2
Fish meat								
in top layer	2	4.72	2.8	66.5	22.1	3.2	2.2	1.8
	14	4.45	8.1	67.5	25.8	2.0	1.3	1.0
	35	4.56	5.7	64.6	25.3	5.1	1.8	1.1
	44	4.51	6.2	63.8	25.7	2.2	1.6	1.0
in bottom layer	2	4.90	2.2	65.1	24.1	—	1.8	1.4
	14	4.82	5.2	66.5	24.1	5.8	1.3	0.8
	35	4.61	5.5	65.9	25.3	5.6	2.1	0.9
	44	4.57	6.0	64.3	29.8	1.9	1.2	0.9
Sub-materials								
in top layer	2	4.50	3.6	77.6	5.2	0.4	2.7	0.9
	14	4.55	4.8	75.7	5.1	—	1.7	0.4
	35	4.72	6.7	75.0	2.4	0.4	0.9	0.7
	44	4.82	8.3	73.8	4.4	0.2	1.0	0.9
in bottom layer	2	4.42	3.1	74.9	5.1	0.1	2.1	0.4
	14	4.90	6.0	76.5	5.2	—	1.4	0.5
	35	4.80	6.3	75.0	3.0	0.2	0.7	0.5
	44	4.89	9.5	73.9	3.9	—	1.5	1.1
Dehydrated product								
Fish meat	44	4.57	8.0	64.4	31.3	1.9	—	1.8
Sub-materials	44	4.70	8.4	71.6	4.7	0.3	—	2.3

原料部の pH は 4.42 から 4.90 へ上昇傾向を示し、特に、漬込み 35 日以降になると、副原料部の pH は魚肉部の pH を上回った。しかし、全体として熟成期間の終了まで pH 5 以下を維持していた。また、魚肉部・副原料部ともに、VB-N はわずかに増加傾向を示した。一般成分については、熟成中に魚肉部の水分のわずかな減少と相対的に粗タンパク質の増加傾向が認められた。

いずし製造工程における有機酸の変化を Table 3 に示した。原料魚肉には乳酸が多く含まれていたが、水晒しと仮酢漬け処理によって大きく減少し、仮酢漬肉に含まれる有機酸の 99% は酢酸 (353 mg/100 g) であった。副原料である米飯麹類では、調味料由来の酢酸 (250 mg/100 g) が主体であり、野菜類ではクエン酸 (327 mg/100 g) のほかリンゴ酸、ピログルタミン酸等が認められた。仮酢漬け肉と野菜類の乳酸は、それぞれ 2 mg/100 g であったが、熟成 2 日後には魚肉部で 27~28 mg/100 g、副原料部では 21~24 mg/100 g に増加した。

熟成過程における変化をみると、上層部・下層部ともに、魚肉部では乳酸が若干の減少傾向を示し、新たに副

原料由来と考えられるクエン酸、ピログルタミン酸、リンゴ酸、コハク酸が認められ、副原料部では酢酸と乳酸はほぼ一定であったが、クエン酸、リンゴ酸、ピログルタミン酸は減少した。脱水処理した製品いずしの総有機酸は魚肉部では 276 mg/100 g、副原料部では 297 mg/100 g で、その 80% 以上が酢酸であった。

いずし製造工程における生菌数の変化 いずし製造工程における一般細菌 (乳酸菌を除く)、乳酸菌および酵母の生菌数変化を Table 4 に示した。

前処理工程中の一般細菌数は、原料肉で 3.2×10^4 CFU/g、水晒し肉では 3.1×10^5 CFU/g であったが、仮酢漬け肉では 2.7×10^3 CFU/g と減少し、米飯・麹類は 3.8×10^6 CFU/g、野菜類は 3.6×10^6 CFU/g であった。乳酸菌数は、原料肉と水晒し肉は 10^4 CFU/g 台であったが、仮酢漬け肉は 3.3×10^2 CFU/g と減少し、米飯・麹類では 8.5×10^5 CFU/g、野菜類は 1.6×10^4 CFU/g であった。酵母数は、原料肉で 3.4×10^4 CFU/g、水晒し肉は 3.7×10^5 CFU/g であったが、仮酢漬け肉では $< 3.0 \times 10^2$ CFU/g と減少し、米飯・麹類は 1.8×10^6 CFU/g、野菜類は 7.3×10^5 CFU/g であった。

Table 3 Organic acid contents of the ripened salmon *Izushi*

Items	Ripening period (d)	Acetate (mg/100 g)	Lactate (mg/100 g)	Succinate (mg/100 g)	Fumarate (mg/100 g)	Malate (mg/100 g)	Pyro-glutamate (mg/100 g)	Aconitate (mg/100 g)	Citrate (mg/100 g)	Total (mg/100 g)
Raw fish meat		5	810	1	1	—	—	tr	—	817
Soaked fish meat	6	95	tr	—	—	—	—	—	—	101
Pickled fish meat	353	2	—	—	—	—	—	—	—	355
Boiled rice and koji	250	—	tr	—	—	2	—	—	2	254
Vegetables	9	2	6	1	152	46	4	327	545	
Fish meat										
in top layer	2	409	28	1	—	3	4	—	20	464
	14	337	16	1	—	4	4	—	11	374
	35	348	16	tr	tr	8	15	—	21	408
	44	349	9	tr	—	tr	5	—	11	375
in bottom layer	2	347	27	1	—	2	5	—	18	400
	14	399	19	1	—	3	10	—	9	439
	35	372	22	1	—	7	12	—	32	445
	44	371	19	1	—	5	15	—	16	427
Sub-materials										
in top layer	2	287	24	2	1	37	13	1	52	415
	14	393	24	1	—	16	12	2	167	614
	35	357	21	1	—	10	11	1	50	450
	44	289	21	1	—	4	4	tr	8	326
in bottom layer	2	360	21	1	—	36	10	1	89	518
	14	364	27	1	—	7	8	1	8	416
	35	360	25	1	—	10	11	1	74	482
	44	349	17	1	—	3	4	1	8	383
Dehydrated product										
Fish meat	44	229	18	1	—	3	9	tr	16	276
Sub-materials	44	259	21	1	—	3	3	1	8	294

すなわち, 各グループの微生物とも前処理工程では, 原料魚肉と水晒し肉の生菌数は $10^4 \sim 10^5$ CFU/g であったが, 仮酢漬け処理によって $<10^2 \sim 10^3$ CFU/g に減少した。また, 米飯・麴類の生菌数は $10^5 \sim 10^6$ CFU/g 台, 野菜類の生菌数は $10^4 \sim 10^6$ CFU/g 台であった。原料肉の微生物は仮酢漬け処理により死滅する割合が高いが, いずしの漬け込みにおいては米飯・麴類, 野菜類由来の微生物の取り込みが多いと判断される。

熟成過程における一般細菌数は上層部・下層部ともに副原料部は 10^5 CFU/g 台で, 魚肉部の $10^4 \sim 10^5$ CFU/g 台と比較して多い傾向を, 乳酸菌数も, 副原料部は 2.0×10^4 CFU/g $\sim 6.2 \times 10^5$ CFU/g で, 魚肉部の $10^3 \sim 10^4$ CFU/g 台と比較して多い傾向を示した。酵母数も同様で, 副原料部は 10^5 CFU/g 台で, 魚肉部の $10^3 \sim 10^4$ CFU/g 台と比較して明らかに多かった。すなわち, 上層部・下層部ともに副原料部の生菌数が魚肉部の生菌数と比較して多い傾向を示した。熟成過程における顕著な生菌数の増加はなかったが, より嫌気的環境にある下層部では乳酸菌がわずかに増加する傾向が認められた。

製品いずしの一般細菌数は, 魚肉部 4.2×10^4 CFU/g, 副原料部 1.1×10^6 CFU/g, 乳酸菌数は, 魚肉部 3.6×10^4 CFU/g, 副原料部 6.9×10^5 CFU/g, 酵母数は, 魚肉部 2.5×10^4 CFU/g, 副原料部 5.7×10^5 CFU/g であり, 熟成過程のものと同様であった。

いずし製造工程における一般細菌相の変遷 前処理および熟成過程におけるサケいずしの各部位から, 一般細菌は 181 株分離され, そのうち, 87 株はグラム陽性の有芽胞桿菌であり, これらを *Bacillus* 属とした。その他, 37 株が *Micrococcus* 属, 28 株が *Achromobacter* 属, 16 株が *Staphylococcus* 属, 13 株が *Pseudomonas* 属に包含される菌株であった。

原材料および前処理過程におけるいずしの一般細菌相を Fig. 3 に示した。原料肉には *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ほか 3 属, 水晒し肉には *Pseudomonas* ほか 2 属, 仮酢漬肉には *Achromobacter* ほか 2 属の細菌が認められた。また, 米飯・麴類では, *Micrococcus* 属と *Bacillus* 属が, 野菜類には *Achromobacter* ほか 2 属の細菌が認められた。

Table 4 Microbial counts of the ripened salmon *Izushi*

Items	Ripening period (d)	Aerobic bacteria (CFU/g)	Lactic acid bacteria (CFU/g)	Yeast (CFU/g)
Raw fish meat		3.2×10^4	7.9×10^4	3.4×10^4
Soaked fish meat		3.1×10^5	1.9×10^4	3.7×10^5
Pickled fish meat		2.7×10^3	3.3×10^2	$< 3.0 \times 10^2$
Boiled rice and koji		3.8×10^6	8.5×10^5	1.8×10^6
Vegetables		3.6×10^6	1.6×10^4	7.3×10^5
Fish meat				
in top layer	2	3.4×10^4	1.0×10^4	2.4×10^4
	14	6.0×10^4	2.5×10^4	1.6×10^4
	35	1.1×10^4	1.9×10^4	1.5×10^4
	44	5.7×10^4	3.9×10^4	6.6×10^3
in bottom layer	2	6.3×10^4	9.3×10^3	6.6×10^4
	14	6.0×10^4	1.2×10^4	3.7×10^4
	35	2.9×10^4	2.9×10^4	2.1×10^4
	44	1.1×10^5	6.7×10^4	1.2×10^4
Sub-materials				
in top layer	2	6.0×10^5	1.0×10^5	4.4×10^5
	14	2.0×10^5	2.0×10^4	1.2×10^5
	35	4.6×10^5	2.0×10^5	2.2×10^5
	44	9.8×10^5	5.4×10^5	3.3×10^5
in bottom layer	2	5.2×10^5	9.6×10^4	3.8×10^5
	14	1.0×10^5	2.6×10^5	4.7×10^5
	35	2.7×10^5	1.5×10^5	1.7×10^5
	44	8.0×10^5	6.2×10^5	4.1×10^5
Dehydrated product				
Fish meat	44	4.2×10^4	3.6×10^4	2.5×10^4
Sub-materials	44	1.1×10^6	6.9×10^5	5.7×10^5

サケいずし熟成過程の細菌相の変化を Fig. 4 に示した。魚肉部は、上層部・下層部ともに、熟成2日後では *Micrococcus* 属 (56~64%), *Bacillus* 属 (22~27%) ほか1属の細菌が認められたが、熟成14日後、35日後、44日後では *Bacillus* 属が57~100%を占めた。副原料部も同様に、上層部・下層部ともに熟成2日後では、*Bacillus* 属 (39~50%) ほか3~4属の細菌が認められたが、熟成14日後、35日後、44日後では *Bacillus* 属が44~100%を占めた。また、図には示さないが、脱水後の製品いずしの細菌相は、魚肉部では86%が、副原料部では100%が *Bacillus* 属であった。すなわち、漬込みの当初は、原料に由来する多様な細菌が認められたが、熟成が進むとともに選択淘汰され、熟成14日以降になると *Bacillus* 属が優勢となった。

いずし製造工程における乳酸菌相の変遷 前処理および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171株分離され、そのうち90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、8株が *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 54株が *Streptococcus* 属、3株が *Enterococcus* 属、7株が *Lactococcus* 属、7株が *Pediococcus damnosus*, 1株が *Pediococcus urinaeequi*, 1株が *Lactobacillus* 属にそれぞれ同定された。

原料肉には *Streptococcus* 属ほか3属 (4種)、水晒肉には *Streptococcus* 属ほか1属、仮酢漬肉には *Streptococcus* 属、*Lactococcus* 属、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* ほか3属 (3種) の乳酸菌が認められた。また、米飯・麴類では *Streptococcus* 属ほか1属 (1種)、野菜類では *Streptococcus* と *Lactococcus* の2属の乳酸菌が認められた (Fig. 3)。

サケいずしの熟成過程における乳酸菌の菌相の変化を Fig. 5 に示した。魚肉部では、熟成2日後から14日後は、上層部では *Streptococcus* 属ほか2属 (3種)、下層部では *Streptococcus* 属ほか1属 (1種) の乳酸菌が認められたが、熟成35日後から44日後では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が88~100%を占めて優勢種となった。副原料部では、上層部・下層部ともに、熟成2日後から14日後は *Streptococcus* 属、*Lactococcus*

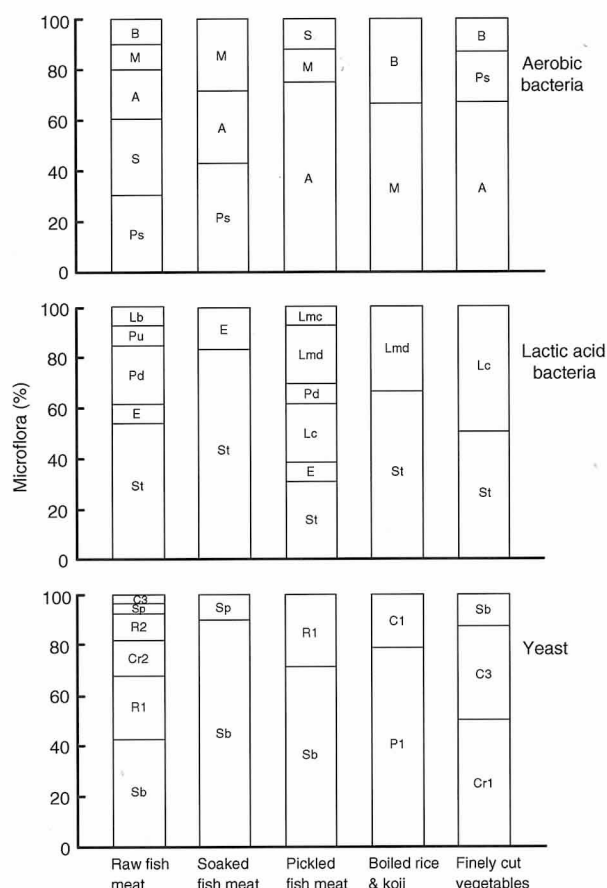


Fig. 3 Microflora of materials for the salmon *Izushi* in the pre-treatment process. Columns for aerobic bacteria: A, *Achromobacter* sp. (20); M, *Micrococcus* sp. (12); Ps, *Pseudomonas* sp. (9); B, *Bacillus* sp. (7); S, *Staphylococcus* sp. (4). For lactic acid bacteria: St, *Streptococcus* sp. (22); E, *Enterococcus* sp. (3); Lc, *Lactococcus* sp. (5); Lmd, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (5); Lmc, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (1); Pd, *Pediococcus damnosus* (4); Pu, *Pediococcus urinaeaequi* (1); Lb, *Lactobacillus* sp. (1). For yeast: Sb, *Sporobolomyces gracilis* (27); P1, *Pichia pastoris* (11); C1, *Candida catenulata* (3); C3, *Candida glabiosa* (4); R1, *Rhodotorula mucilaginosa* (9); R2, *Rhodotorula minuta* (3); Cr1, *Cryptococcus albidus* (4); Cr2, *Cryptococcus macerans* (4); Sp, *Sporopachydermia lactativora* (2). The numbers of isolates are represented in parentheses.

属ほか2属(2種)の乳酸菌が認められたが、熟成35日後から44日後になると *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が77~100%を占めて優勢種となった。すなわち、部位全体としてみると、漬込みの当初は、原料に由来する乳酸菌種が認められたが、熟成35日以降になると選択淘汰され、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が優勢種となった。

いずし製造工程における酵母の菌相の変遷 前処理および熟成過程におけるサケいずしの各部位から酵母は総

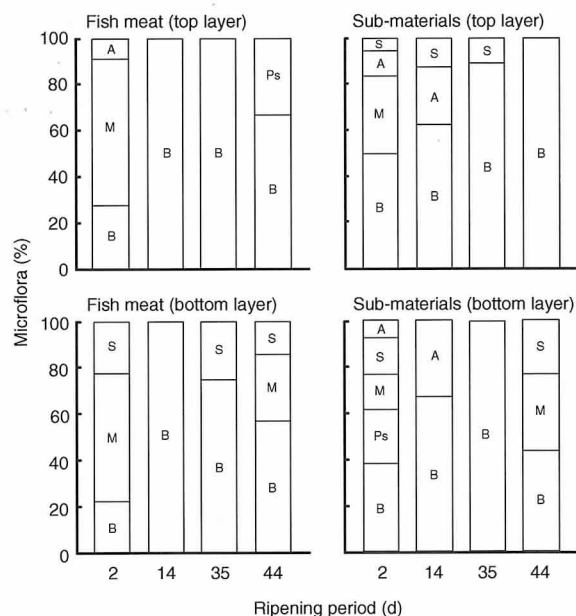


Fig. 4 Aerobic bacterial flora of fermented salmon *Izushi* during the ripening process. Columns: B, *Bacillus* sp. (80); M, *Micrococcus* sp. (25); S, *Staphylococcus* sp. (12); A, *Achromobacter* sp. (8); Ps, *Pseudomonas* sp. (4). The numbers of isolates are represented in parentheses.

計321株分離され、そのうち、163株はラクトースを発酵せず、グルコース、ガラクトース、スクロース、マルトースの発酵性はほとんどなく、グルコース、ガラクトース、スクロース、マルトースを同化し、硝酸塩を同化しないことから *Debaryomyces hansenii* に同定された。また、81株は供試糖のうちグルコースのみを発酵・同化することから *Pichia pastoris* に同定され、その他、1株が *Pichia guilliermondii*, 27株が *Sporobolomyces gracilis*, 11株が *Candida catenulata*, 4株が *Candida ernobii*, 4株が *Candida glabiosa*, 2株が *Candida pini*, 1株が *Candida boidinii*, 9株が *Rhodotorula mucilaginosa*, 3株が *Rhodotorula minuta*, 1株が *Rhodotorula aurantiaca*, 4株が *Cryptococcus albidus*, 4株が *Cryptococcus macerans*, 4株が *Zygosaccharomyces bisporus*, 2株が *Sporopachydermia lactativora* に同定された。

原料肉には *Sporobolomyces gracilis* ほか5属(5種)、水晒肉では *Sporobolomyces gracilis* ほか1属(1種)、仮酢漬肉では *Sporobolomyces gracilis* ほか1属(1種)の酵母が認められた。また、米飯・麴類では、*Pichia pastoris* ほか1属(1種)、野菜類では *Cryptococcus albidus* ほか2属(2種)の酵母が認められた (Fig. 3)。

サケいずしの熟成過程における酵母の菌相の変化を Fig. 6 に示した。魚肉部では、上層部・下層部ともに、熟成2日後では *Pichia pastoris* (88~93%) ほか1~2属(種)の酵母が認められたが、熟成が進むにつれて *De-*

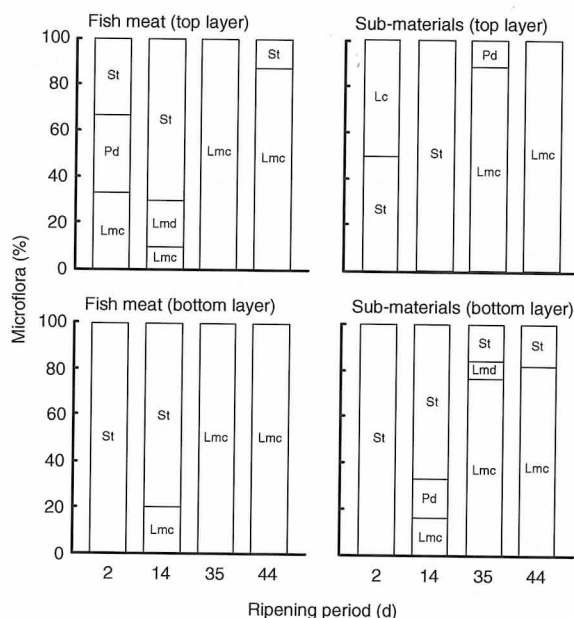


Fig. 5 Lactic acid bacterial flora of fermented salmon *Izushi* during the ripening process. Columns: Lmc, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (89); Lmd, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (3); St, *Streptococcus* sp. (32); Lc, *Lactococcus* sp. (2); Pd, *Pediococcus damnosus* (3). The numbers of isolates are represented in parentheses.

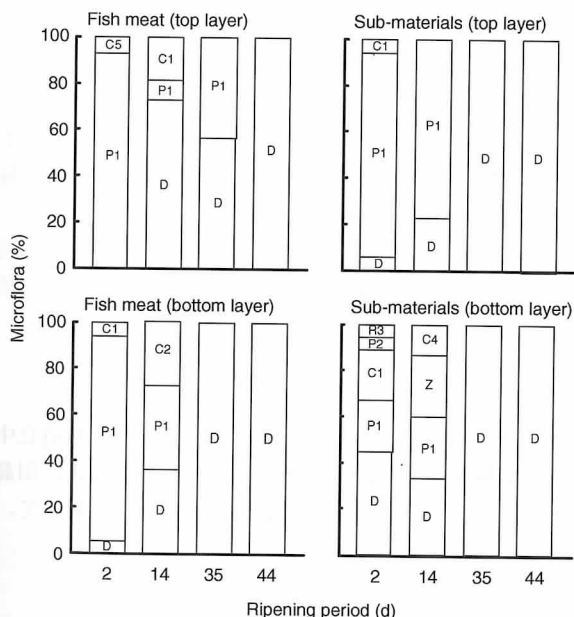


Fig. 6 Yeast flora of fermented salmon *Izushi* during the ripening process. Columns: D, *Debaryomyces hansenii* (163); P1, *Pichia pastoris* (70); P2, *Pichia guilliermondii* (1); C1, *Candida catenulata* (8); C2, *Candida er-nobii* (4); C4, *Candida pini* (2); C5, *Candida boidinii* (1); Z, *Zygosaccharomyces bisporus* (4); R3, *Rhodotorula aurantiaca* (1). The numbers of isolates are represented in parentheses.

baryomyces hansenii の割合が増し、44 日後には 100% を占めた。副原料部では、熟成 2 日後では上層部は *Pichia pastoris* ほか 2 属 (2 種)、下層部では *Debaryomyces hansenii* ほか 4 属 (4 種) の酵母が認められた。しかし、上層部・下層部ともに、熟成が進むにつれて *Debaryomyces hansenii* の割合が増加し、35 日以降 100% を占めた。すなわち、上層部・下層部、魚肉部・副原料部を通してみると、漬込みの当初は、原料に由来する多様な酵母が認められたが、熟成 35 日後以降では選択淘汰が行われ、*Debaryomyces hansenii* が優勢種となった。

考 察

いずしの熟成が進み、麴が軟化し、野菜類も馴れて、若干の酸味や旨みと芳香が付与され、食用可能な状態になったのは漬込み開始後 35 日以降であった。漬込み 44 日後になって、食用に最適な状態になったと判断して熟成を終了したが、被膜の生成が充分でなかったこともあり、さらに数日間熟成させる必要があったかもしれない。いずしの旨みが出る時期については諸説があり、被膜ができはじめてから数日後である¹⁾、いずしは漬込み後 3 週間経なければ味が良くならない²⁾、いずしが熟れる期間は 45 日である¹⁷⁾ などと言われており、いずしの熟成度合いの客観的判定方法を確立する必要がある。

官能検査結果、熟成過程における pH や化学成分の変化、生菌数、細菌相の変遷などを見ると、いずしの熟成は、上層部・下層部にかかわらず全体的に進行していたと考えられる。小笠原、三井¹⁸⁾ は、いずし樽の採取部位別の化学成分の変化について、水分には若干の差が認められたが、pH、酸度、VB-N、TMA-N、ヒスタミン、一般細菌数にはほとんど差が認められなかったと報告している。

いずしの熟成が進むと、魚肉部の pH は低下傾向を、副原料部の pH は上昇傾向を示したが、熟成期間の終了まで両部位ともに pH は 5 以下を示した。製造方法が異なるが、阿部、露木⁶⁾ も、ハタハタすしの米飯の pH は漬込み 2 日目から 18 日目まで 4.9 の一定値を保ったと報告している。

いずし製造工程における有機酸の変化では、原料肉に含まれていた乳酸は水晒しと仮酢漬け処理によって 2 mg/100 g まで減少したが、乳酸は熟成初期に微増したため、ごく弱い発酵が生じたことも考えられる。張ら¹⁹⁾ は、サバ馴れずしの製造中において、原料魚の乳酸量は高かったが、塩漬け中に急激に減少し、塩抜きによりさらに減少し、その後の本漬け中に増加したことを報告している。また、阿部、露木⁷⁾ は、ハタハタすしにおける有機酸の変動について、原料魚の乳酸量は 22.4 mg/100 g (総有機酸量の 44.6%) であったが、90 分間

の塩水漬・24時間の3%酢の素液漬・23日間の本漬後では13.2 mg/100 gとなり、本漬83日後では19 mg/100 gにやや増加したことを報告している。本試験における製品いずし魚肉部の乳酸量(18 mg/100 g)はこのハタハタすしの長期熟成後の乳酸量とはほぼ一致している。本試験のサケいずしには、酢酸、乳酸、クエン酸、ピログルタミン酸、リンゴ酸、コハク酸、アコニット酸の7種類の有機酸が検出され、野菜類に由来するクエン酸、ピログルタミン酸、リンゴ酸なども魚肉部へ移行し、いずしの有機酸分布は均等化する傾向が認められた。阿部、露木⁷⁾は、ハタハタすしから13種類の有機酸を検出し、同様の分布均等化傾向を報告している。

いずし熟成過程の一般細菌、乳酸菌、酵母の生菌数は、漬込み2日以降大きな変化を示さなかったが、これは漬込み開始段階からpH 5以下で5℃前後という条件が微生物の増殖にとっては適切でないことを示唆している。菊池ら²⁰⁾は5℃で熟成させた塩分含量2%のニシン漬の一般細菌数と酵母数は、漬け込み初期から熟成35日後まで $10^5 \sim 10^4$ /g程度を維持することを報告している。角野ら⁵⁾の調査によると、市販いずしの一般細菌生菌数と乳酸菌数はそれぞれ $7.6 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^8$ CFU/gと $< 3.0 \times 10^1 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU/gの範囲内にあったと報告している。

漬込み当初の微生物相は原材料に由来する微生物が多く認められたが、熟成が進むとともに選択淘汰され、漬込み14日以降では、一般細菌で*Bacillus*属が優勢となり(Fig. 4)、熟成35日以降の場合、乳酸菌では*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*が、酵母では*Debaryomyces hansenii*が優勢種となった(Figs. 5, 6)。熟成35日目は、いずしが食用可能になり始めた時期にあたり、これらの乳酸菌と酵母がいずしの風味醸成に関与している可能性が考えられる。

吉村²⁾は、いずしの熟成過程で最も影響を与える微生物は酵母と乳酸菌であると報告しており、乳酸菌としては*Streptococcus*属(現在の*Enterococcus*属に該当するものも含む)を分離している。藤井²¹⁾は、サケのいずしについて調べた結果、乳酸菌、酵母とも 10^6 /gで、乳酸菌では*Lactobacillus*属と*Streptococcus*属を分離している。

Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*は、ヘテロ発酵乳酸球菌で、グルコースから乳酸のほかエタノールや二酸化炭素を生成する。さらに、本菌種はクエン酸を代謝してアセトインやシアセチルを生成し、独特のフレーバーを醸し出す¹⁴⁾ため、発酵乳製品のスターターとしても利用されているが、サケいずしの副原料野菜類に由来するクエン酸は本菌によるフレーバー形成基質となる可能性がある。

*Debaryomyces hansenii*には培養液表面に被膜形成能

を有する菌株が含まれ、¹⁶⁾ いずし漬汁表面の被膜形成には本酵母が関与していると考えられる。*Pichia*属にも産膜性酵母が多く含まれるが、漬込み初期に比較的大きな比率を占めた*Pichia pastoris*には被膜形成能はない。¹⁶⁾ この酵母は、原材料の米飯・麴から多く分離されたことから、麴に由来するものと考えられる。

*Leuconostoc mesenteroides*と*Debaryomyces hansenii*は、ともに漬物類において熟成中に発育がみられる微生物の代表的なもので、その風味形成に関わるとされている。²²⁾ 菊池ら²⁰⁾および森、北原²³⁾は、水産物入り野菜漬物の微生物相を調べ、主要構成細菌として 10^8 CFU/mL以上の乳酸菌(*Leuconostoc*属、*Lactobacillus*属)と $10^3 \sim 10^4$ CFU/mLのグラム陰性細菌を報告している。本研究のサケいずしの細菌相においては、乳酸菌以外の主要構成細菌として*Bacillus*属を認めており、麴や野菜類の汚染菌と考えることができる。

松田ら²⁴⁾は、有機酸類の各種微生物種に対する発育阻止効果を調べ、本研究のサケいずしのpHに相当するpH 5.0以下では*Bacillus*属3種(*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*)の酢酸に対する感受性は乳酸菌や酵母よりも高いと報告している。おそらく、サケいずしの熟成中に優勢となった*Bacillus*属細菌においても増殖活性は著しく抑制されており、いずしの芳香性や旨味の付与にはほとんど影響していないものと推測される。

本研究では、サケいずしを製造し、低温で熟成させる過程において、いずし特有の好ましい風味を生成させるためには44日間程度の長期熟成期間が必要であり、また、風味醸成に関与すると考えられる乳酸菌、酵母の優勢種が存在することが明らかとなった。しかしながら、熟成中にこれらの生菌数の著しい増加は認められず、菌相特性といずしの風味生成との関係についてはさらに検討する必要がある。

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) 吉村花子. 飯鮓の研究(第1報) 飯鮓の製法および熟成中の化学変化. 北学大紀要(第二部) 1955; 6(2): 71-74.
- 2) 吉村花子. 飯鮓の研究(II) 飯鮓の熟成と微生物との関係. 北学大紀要(第二部) 1956; 7: 159-162.
- 3) 唐島田 隆, 女鹿晃道, 栗城篤治, 柳瀬 夢, 杉井孝雄, 小笠原和夫, 安藤和夫. “いずし”中におけるボトリヌス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.
- 4) 神沢謙三, 飯田広夫. “いずし”中におけるボトリヌス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.
- 5) 角野 猛, 日野明子, 金成朋恵, 会田久仁子, 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.
 - 6) 阿部輝雄, 露木英男. ハタハタすしの漬け込み中における成分変化. 日食工誌 1967; 14: 78-80.
 - 7) 阿部輝雄, 露木英男. ハタハタすしにおける有機酸の変動. 日食工誌 1971; 18: 24-27.
 - 8) 相澤 悟. いずし. 「水産加工品総覧」光琳, 東京. 1983; 240-242.
 - 9) 前田安彦, 金子憲太郎, 小沢好夫, 宇田 靖. 「食品分析法」(増補5版) 弘学出版, 川崎. 1982; 21-51, 79-83.
 - 10) 山形 誠. 魚肉トリメチルアミンオキシサイド, トリメチルアミンの微量拡散法による定量. 「水産生物化学・食品学実験書」(斎藤恒行, 内山 均, 梅本 滋, 河端俊治編) 恒星社厚生閣, 東京. 1974; 281-286.
 - 11) 山下市二. 有機酸. 「食品分析法」(日本食品工業学会食品分析法編集委員会編) 光琳, 東京. 1984; 517-520.
 - 12) Shewan JM, Hobbs G, Hodgkiss W. The *Pseudomonas* and *Achromobacter* groups of bacteria in the spoilage of marine white fish. *J. Appl. Bacteriol.* 1960; 23: 463-468.
 - 13) 駒形和男. 細菌(1)―好気性細菌. 「微生物の分類と同定」(改訂版)(下)(長谷川武治編) 学会出版センター, 東京. 1985; 99-161.
 - 14) Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore. 1986; 999-1103.
 - 15) 内村 泰, 岡田早苗. 「乳酸菌実験マニュアル」朝倉書店, 東京. 1992; 126-135.
 - 16) Kurtzman CP, Fell JW (eds). *The Yeasts. A Taxonomic Study* 4th ed., Elsevier Science, Amsterdam. 1998; 1-1055.
 - 17) 原田康子. 「海霧」(上) 講談社, 東京. 2002; 370.
 - 18) 小笠原和夫, 三井佳子. 「いずし」によるアレルギー様食中毒例について. 道衛研報 1958; 10: 44-52.
 - 19) 張 俊明, 大島敏明, 小泉千秋. サバ馴れずしの製造工程中における脂質, 遊離アミノ酸および有機酸組成の変化. 日水誌 1992; 58: 1961-1969.
 - 20) 菊地政則, 中島幸一, 浅野行蔵, 高尾彰一. ニシン漬の発酵過程における微生物の動態におよぼす温度および食塩の影響. 食科工誌 1996; 43: 176-180.
 - 21) 藤井建夫. 「塩辛・くさや・かつお節」恒星社厚生閣, 東京. 1992; 82-83.
 - 22) 伊藤 寛. 漬物類. 「バイオプリザベーション」(森地敏樹, 松田敏生編) 幸書房, 東京. 1999; 90-103.
 - 23) 森 勝美, 北原郁文. 水産物入り野菜漬け物市販製品の微生物フローラ. 食科工誌 1998; 45: 630-635.
 - 24) 松田敏生, 矢野俊博, 丸山昌弘, 熊谷英彦. 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. 日食工誌 1994; 41: 687-701.