



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塩蔵の影響
Author(s)	佐々木, 政則; 川合, 祐史; 吉水, 守 他
Citation	日本水産学会誌, 71(4), 618-627 https://doi.org/10.2331/suisan.71.618
Issue Date	2005-07-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53378
Rights	© 2005 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	article125.pdf



サケいずしの化学的, 微生物学的性状に及ぼす 原料サケの塩蔵の影響

佐々木政則,^{1*} 川合祐史,² 吉水 守,² 信濃晴雄³

(2004年6月3日受付, 2005年2月7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

Effect of salting of salmon 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

Izushi was prepared from raw and salted chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fillets. Effects of salting on the chemical and microbiological characteristics during pre-treatment and the ripening process were investigated to compare these *Izushi* products. Both reached an acceptable state by ripening for 36 d. During the ripening process, pH values of both *Izushi* samples remained below pH 5.2 and organic acids in *Izushi* were mostly acetic acid used as vinegar. By the salting and soaking processes, lower molecular compounds were eluted away and salting decreased microbial counts in *Izushi* products. In *Izushi* prepared from salted fish, free amino acids were increased while the increase of VB-N was suppressed during the ripening process, and the fish meat in the ripened product had a more fragile texture. The salting of fish fillets was suggested not to affect microbial flora of *Izushi*. Regardless of the salting, microbial counts of *Izushi* did not significantly increase during the ripening process, and after ripening for 36 d or longer, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and *Saccharomyces cerevisiae* became dominant as the groups of lactic acid bacteria and yeasts, respectively.

キーワード: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, 塩蔵, サケ, 熟成, 微生物相, 有機酸, 遊離アミノ酸

すしのおこりは馴れずしといわれ, 魚肉を塩蔵して水分の一部を除去した後, 米飯と交互に積み重ねて, 長期間自然発酵させた貯蔵食品であり, 大陸から稲が渡来した頃に伝来した魚類の加工法の一つと考えられている。¹⁾ その後, 室町時代になると, 風味を重視して, 塩漬けた魚を短期間漬け込んで, 飯は発酵していくらかの酸味を帯びるが, 魚は生々しい内に食べる生馴れずしが始まり, さらに, 麴を添加して熟成を促進させたいずしが造られるようになったと考えられている。¹⁾

サケいずしの製法を調べてみると, 羽後国河辺郡の製法, 元禄時代の仙台流鮭鮓, 鮭子籠鮓²⁾を始め, 塩蔵サケを用いる例が多いが, 血抜きのために行う水晒し処理は記載されていない。それが, 冷蔵庫と冷凍流通体系が

整備され, おもな生鮮食用向けサケの貯蔵法が塩蔵から冷凍冷蔵に移行するとともに, サケいずしの原料には, 生サケでも塩蔵サケでも鮮度の良いものを用い, 生臭みを消すために水晒しを行う^{3,4)}ように変化したようである。

いずしを製造する場合, 最も注意しなければならないのはボツリヌス中毒であるが, 5%食塩の存在またはpH 5.0~5.5以下では, ボツリヌス菌の増殖ならびに毒素の産生は阻止されると考えられている。⁵⁾ また, 従来の中毒例をみると, 水晒し期間は5~7日位が多く, この間不注意に温度を上げたことによって食中毒が起きたと考えられ, 水晒し時の水温が10℃以下では毒化しないと報告されている。⁴⁾ これらのことに基づき, 製造方

法を改良して水晒しを省略したり、最初から魚肉を塩漬けまたは酢で締めるようになってからほとんど中毒事件は起きていない。⁵⁾しかし、原料塩蔵と食中毒との関係は指摘されているが、いずしの原料塩蔵と製品品質との関係については明らかにされていない。

そこで本報では、原料の塩蔵の有無がいずしの発酵様式と製品品質に及ぼす影響を明らかにするため、生サケと塩蔵サケを用いたいずしを対象として、原料の塩蔵・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遊離アミノ酸や有機酸および微生物相の変化について調べた。

実験方法

サケいずしの製造方法 サケいずしは、前報⁶⁾と同様の方法により、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、前報⁶⁾のいずしの製造方法では、サケ切り身以外の副原料品目が多様で、配合割合も伝承技術によるところがあったため、これまで製造された34例のいずしの配合例を調査し、⁷⁾ 野菜類は全例で使用されていたにんじん、しょうが、とうがらしに絞るなど単純化した。すなわち、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%)、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%)、酒250 g (5%)、みりん100 g (2%)とした。

主原料のサケは、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、15%の食塩で散塩漬けて19日間0～5℃で塩蔵したものと、塩蔵せずに0～5℃で1日間保存したものを用意した。両フィレーとも0.2～4.2℃の水道水(流水)に3日間晒した後、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。

試験区分は、生サケを用いたものをR区、塩蔵サケを用いたものをS区とした。両区とも樽に漬け込み、2日間は発酵・熟成を促進するために5.0～10.2℃の部屋に加圧しないで置き、その後は冷蔵庫に移し、19日間は5～7℃で8 kgの荷重で加圧した。その後の30日間は3.5～7.5℃で16 kgの荷重で加圧して熟成を進め、漬け込み51日後の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、加圧脱水後に得られたいずしの製品歩留りは、R区が58.7%、S区が65.1%であった。

R区・S区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)に樽からいずしを一部取り出し、魚肉部と副原料部(野菜、米飯、麴など)の各100 gに分けてそれぞれを均質化し、各種分析に供した。なお、前報⁶⁾において、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することが分かったため、試料の採取場所は中層部とした。また、いずし原料の生サケ肉・塩蔵サケ肉と野菜類、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同様の分析を行った。

また、熟成中のいずし上澄液の色調、香り、被膜の生成状況と、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)の外観、味、香り、テクスチャーなどの官能的観察を行った。

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。前報⁶⁾と同一の方法で、pH、水分、塩分、揮発性塩基窒素(VB-N)、有機酸量を測定した。また、エキス態窒素は試料の10%トリクロロ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高速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。⁸⁾ 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、魚肉部ではアンセリン、副原料の米飯・麴・野菜類ではヒスチジンとしてアミノ酸総量を算出した。

生菌数の測定 樽から取り出したいずしの魚肉部と副原料部約10 gを無菌的に採取し、9倍量の滅菌リン酸緩衝液を加えてホモジナイザーで均質化し、各種生菌数の測定を行った。前報⁶⁾と同じ方法で、標準寒天培地・一般乳酸菌保存検出用培地・ポテトデキストロース寒天培地(日水製薬)を用い、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生菌数値を補正して決定した。

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30以上の集落を釣菌後、純粋分離を行い、同定試験に供した。前報⁶⁾と同様に、一般細菌の同定はShewanら⁹⁾および駒形¹⁰⁾の簡易同定スキームに準拠して行い、また、乳酸菌の場合は、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology¹¹⁾および内村、岡田¹²⁾の同定ダイヤグラムに従って属あるいは種まで決定した。酵母はThe Yeast(第4版)¹³⁾の記載に従って同定した。

Table 1 Chemical characteristics of *Izushi* prepared with raw and salted salmon fillets

Items	Ripening period (d)	pH	VB-N (mg/100 g)	Extractive-N (mg/100 g)	Moisture (g/100 g)	Salt (g/100 g)
Fish meat						
Raw		6.28	13.2	481	75.7	0.2
Salted		6.28	12.0	365	62.5	13.5
Soaked fish meat						
Raw		6.32	6.0	323	76.0	0.2
Salted		6.38	2.4	182	79.8	1.9
Pickled fish meat						
Raw		5.02	5.7	291	75.1	0.1
Salted		4.94	3.1	301	76.1	1.9
Boiled rice and koji		4.62	1.1	41	63.5	0.5
Vegetables		6.48	1.8	113	90.2	0.1
<i>Izushi R</i>						
Fish meat	2	5.05	4.9	333	68.4	— ^a
	19	4.98	7.7	411	66.4	2.2
	36	4.96	13.3	550	66.8	3.0
	51	4.84	16.9	565	63.4	2.5
Sub-materials	2	5.03	4.9	195	72.9	—
	19	5.14	9.2	389	74.8	2.5
	36	5.20	12.0	527	74.3	3.5
	51	5.06	20.7	587	71.5	2.8
<i>Izushi S</i>						
Fish meat	2	4.96	3.1	278	68.9	3.0
	19	4.84	4.8	344	66.8	3.7
	36	4.82	7.0	433	66.9	3.9
	51	4.85	9.1	520	66.2	4.0
Sub-materials	2	4.83	2.5	111	—	3.1
	19	5.08	4.5	316	72.8	3.9
	36	5.09	8.9	439	72.2	4.4
	51	5.12	9.1	520	71.1	4.4

Izushi R and *S* were prepared with raw and salted salmon fillets, respectively.

^a —: not determined.

結 果

いずし熟成過程の官能的観察 漬け込み2日後では、生サケ区(R区)と塩蔵サケ区(S区)とも芳香はあるが、魚肉・麴・野菜類は未熟で、肉質は身締りしていた。漬け込み19日後では、両区とも魚肉部の色・味・香りは良いが、野菜類はやや熟成不足で、S区の塩味がやや強く感じられた。漬け込み36日後では、両区とも上澄み液に被膜が生成し、いずし特有の甘酸っぱい芳香を呈し、R区の魚肉は熟成して旨味があったが、S区の魚肉は甘塩味が感じられ、身締りしていた。漬け込み51日後の製品いずしは、両区とも魚肉に退色が認められたが、いずし特有の芳香を呈し、R区は魚肉・米飯・野菜類に甘味と旨味があり、硬さも適度で食べやすかったが、S区の魚肉に甘塩味とともに脆さを感じた。

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。原料では、生サケ肉を塩蔵処理すると、水分は 75.7 g/100 g から 62.5 g/100 g に減少し、塩分は 0.2 g/100 g から 13.5 g/100 g に増加した。さらに、水晒しと仮酢漬け処理によって、生サケ肉の水分および塩分はわずかに減少したが、塩蔵サケ肉の水分は 76.1 g/100 g に増加し、塩分は 1.9 g/100 g まで減少した。この前処理工程によって塩蔵サケ肉では塩抜きされ、また、両原料サケ肉ともこの工程によって pH は 6.28 から 4.94~5.02 へ低下し、VB-N とエキス態窒素は減少した。特に塩蔵サケ肉では、これら低分子成分の変動が大きかった。漬け込み時における副原料の米飯(酢飯)・麴類の pH は 4.62、水分は 63.5 g/100 g で、野菜類の pH は 6.48、水分は 90.2 g/100 g であった。

熟成過程における化学成分の変化は、若干のバラツキはあるが、R区・S区ともに同一傾向を示した。魚肉部

Table 2 Organic acid composition of *Izushi* prepared with raw and salted salmon fillets (mg/100 g)

Items	Ripening period (d)	Acetate	Lactate	Succinate	Fumarate	Malate	Citrate	Total
Fish meat								
Raw		5	800	1	1	— ^a	—	807
Salted		3	488	5	tr ^b	—	—	496
Pickled fish meat								
Raw		346	153	tr	tr	—	—	499
Salted		381	127	2	tr	—	tr	510
Boiled rice and koji		116	—	tr	tr	—	tr	116
Vegetables		19	tr	6	15	101	16	158
Fish meat								
<i>Izushi</i> R	19	275	34	1	tr	tr	tr	310
	51	354	82	1	tr	—	tr	437
<i>Izushi</i> S	19	289	27	2	tr	—	tr	318
	51	321	34	2	—	—	—	357

Izushi R and S were prepared with raw and salted salmon fillets, respectively.

^a —: not detected.

^b tr: trace amount (< 1 mg/100g).

の pH は R 区で 5.05 から 4.84, S 区で 4.96 から 4.85 へと低下傾向を示し, 副原料部の pH は R 区で 5.03 から 5.20 まで, S 区で 4.83 から 5.12 へ上昇傾向を示した。しかし, pH の変動幅は小さく, 熟成期間の終了まで pH 5.20 以下を維持していた。また, 魚肉部・副原料部ともに, VB-N は熟成過程で増加したが, S 区の増加量は R 区の約 1/2 であった。エキス態窒素も R 区・S 区とも熟成過程で増加し, 魚肉部では漬け込み初期には 300 mg/100 g 付近であったものが 500 mg/100 g 以上に増加し, 副原料部についても初期には 200 mg/100 g 以下であったが, 熟成後期には魚肉部と同等のエキス含量を示した。生サケ肉の水分は 75.1 g/100 g から 64.3 g/100 g に, 塩蔵サケ肉も 76.1 g/100 g から 66.2 g/100 g に大きく減少した。塩蔵サケ肉を原料にした S 区の塩分量 (魚肉部 3.0~4.0 g/100 g, 副原料部 3.1~4.4 g/100 g) は, 生サケ肉を用いた R 区と比べ, 魚肉部では 0.9~1.5 g/100 g, 副原料部では 0.9~1.6 g/100 g 多かった。

いずし製造工程における有機酸の変化を Table 2 に示した。原料の生サケ肉には乳酸が多く含まれていたが, 塩蔵処理によって減少した。さらに水晒しと仮酢漬け処理によって生サケ肉, 塩蔵サケ肉とも乳酸が大きく減少し, 含まれる有機酸の 69~75% が酢酸で, 乳酸は 31~25% となった。副原料である米飯・麴類では, 合わせ酢由来の酢酸が主体であり, 野菜類ではリンゴ酸のほか, 酢酸, クエン酸, フマル酸, コハク酸などが認められた。製品いずし (漬け込み 51 日後) 魚肉部の総有機酸は R 区では 437 mg/100 g, S 区では 357 mg/100 g であり, その 81~90% が酢酸であった。乳酸は R 区の

魚肉部でわずかな増加が認められた。

いずし製造工程における遊離アミノ酸の変化を Table 3 に示した。原料の生サケ肉には 19 種類の遊離アミノ酸が総量で 1380 mg/100 g 含まれていたが, 塩蔵処理によってアンセリン (ヒスチジン含む), グルタミン酸, アラニン等が大きく減少してアミノ酸総量は 966 mg/100 g となった。さらに, 水晒し処理によって遊離アミノ酸は大きく減少し, 水晒し肉の遊離アミノ酸総量は, 生サケ肉では 144 mg/100 g, 塩蔵サケ肉では 331 mg/100 g となった。熟成過程における変化を見ると, R 区・S 区とも, アンセリンとタウリンは減少傾向を示したが, 他のアミノ酸は増加し, アミノ酸総量は, R 区・S 区とも漬け込み 2 日後では約 700 mg/100 g であったが, 51 日後の製品いずしでは約 1300 mg/100 g となった。また, S 区よりも R 区のアミノ酸総量の増加程度がわずかに大きい傾向がうかがわれた。

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, 酵母の生菌数の変化を Table 4 に示した。前処理工程では, 生サケ肉の塩蔵によって各微生物群とも減少傾向を示した。さらに生サケ肉, 塩蔵サケ肉ともに各微生物群の生菌数は水晒し過程でわずかに増加し, 仮酢漬け処理によって再度減少したが, 塩蔵サケ肉の生菌数は前処理工程中一貫して生サケ肉よりも少ない傾向にあった。また, 米飯・麴類の生菌数は 10^5 CFU/g 台, 野菜類の生菌数は 10^4 ~ 10^6 CFU/g 台であった。漬け込み 2 日後から 51 日後における一般細菌, 乳酸菌, 酵母の生菌数には顕著な増加は認められず, いずれの微生物群も R 区・S 区ともに副原料部では 10^7 CFU/g 台であり, 魚肉部の 10^6 CFU/g 台と比較

Table 3 Free amino acid composition of *Izushi* prepared with raw and salted salmon filets (mg/100 g)

Amino acid	Fish meat		Soaked fish meat		Boiled rice & koji	Vegetables	Ripening period					
	Raw	Salted	Raw	Salted			Izushi R (Fish meat)			Izushi S (Fish meat)		
							2 d	19 d	51 d	2 d	19 d	51 d
Taurine	47.7	66.6	4.7	8.5	— ^a	—	28.1	18.7	21.0	28.5	14.5	17.5
Aspartic acid	4.3	7.4	1.7	2.2	0.9	26.3	8.6	20.3	30.2	12.4	18.5	33.0
Glutamine	13.3	15.9	—	—	11.8	225.2	19.9	42.6	39.8	16.6	47.8	66.3
Threonine	8.3	11.8	1.9	2.5	1.9	50.1	11.4	25.1	51.7	10.6	27.3	54.3
Serine	10.4	13.7	2.8	3.7	2.1	21.3	10.8	21.6	37.4	12.4	19.0	36.7
Glutamic acid	43.1	32.1	2.5	7.3	2.7	18.7	21.4	41.6	93.7	25.4	46.4	90.7
Proline	3.7	4.9	1.7	1.9	2.8	6.3	5.0	15.2	27.8	7.0	12.5	23.9
Glycine	11.9	13.0	1.8	2.1	1.2	7.8	7.8	13.8	27.6	8.3	12.4	21.6
Alanine	34.3	31.2	4.6	8.1	3.4	39.5	20.9	41.4	85.8	20.2	38.9	71.6
Valine	10.0	12.5	3.0	4.2	1.9	11.9	11.4	27.8	56.1	11.5	26.4	50.0
Methionine	2.7	6.3	2.0	1.6	0.8	1.5	7.5	26.8	50.3	6.1	25.4	45.2
Isoleucine	6.1	8.7	1.3	1.6	2.2	6.2	8.7	26.7	54.7	9.9	24.5	49.9
Leucine	10.6	16.9	2.8	3.3	3.7	5.6	20.7	64.7	113.4	21.7	63.5	111.3
Tyrosine	9.4	10.8	2.3	3.8	2.2	4.6	11.0	32.4	54.6	14.6	29.0	56.3
Phenylalanine	6.4	11.1	1.8	2.7	2.3	4.7	10.3	29.1	51.5	10.4	28.9	49.5
Ornithine	1.9	1.2	—	—	1.5	6.8	1.6	2.6	10.8	1.2	2.2	2.3
Lysine	17.9	32.8	6.0	6.5	4.6	2.6	28.0	78.5	133.8	33.6	76.3	134.1
Anserine + Histidine	1133.1	655.3	100.3	267.9	2.8	5.3	441.8	298.8	296.0	423.9	206.5	255.0
Arginine	5.8	13.8	3.1	3.1	5.3	11.1	16.4	51.1	76.6	18.2	55.1	95.7
Total	1380.9	966.0	144.3	331.0	54.1	455.5	691.3	878.8	1312.8	692.5	775.1	1264.9

Izushi R and S were prepared with raw and salted salmon filets, respectively.

^a —: not detected.

して約 10 倍多かった。

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いずしの各部位から、一般細菌は 82 株分離され、そのうち 26 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、24 株が *Staphylococcus* 属、18 株が *Micrococcus* 属、6 株が *Flavobacterium* 属、3 株が *Arthrobacter* 属、2 株が *Pseudomonas* 属、1 株が *Chromobacterium* 属、1 株が *Corynebacterium* 属、1 株が Enterobacteriaceae 科に包含される菌株であった。

原材料および前処理過程の一般細菌相を Fig. 1 に示した。原料の生サケ肉には *Staphylococcus* 属ほか 4 属、塩蔵サケ肉には *Staphylococcus* 属ほか 4 属、生サケ水晒し肉には *Staphylococcus* 属ほか 4 属、塩蔵サケ水晒し肉には *Staphylococcus* 属と *Bacillus* 属が、生サケ仮酢漬け肉には *Staphylococcus* 属と *Flavobacterium* 属が、塩蔵サケ仮酢漬け肉には *Staphylococcus* 属ほか 3 属の細菌が認められた。また、米飯・麴類では、*Bacillus* 属と *Staphylococcus* 属ほか 1 属、野菜類には *Bacillus* 属、*Micrococcus* 属、*Corynebacterium* 属の細菌が認められた。

いずし熟成過程の細菌相の変化は図示していないが、R 区・S 区ともに、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、熟成が進むとともに菌相は

単純化され、漬け込み 36 日以降になると *Bacillus* 属が優勢となった。このような傾向は前報⁶⁾と同様である。

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いずしの各部位から乳酸菌は総計 358 株分離された。そのうち、233 株はヘテロ発酵型乳酸球菌の *Leuconostoc* 属に属し、69 株はホモ発酵型乳酸球菌の *Streptococcus* 属 (*Lactococcus* 属、*Enterococcus* 属を含む)、32 株は乳酸桿菌 *Lactobacillus* 属、24 株はホモ発酵四連乳酸球菌 *Pediococcus* 属と同定された。

全分離乳酸菌株の 65% を占める *Leuconostoc* 属菌株について、主に糖の分解性をもとに種まで同定したところ、157 株はスクロース、トレハロースから酸を生成しない *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* であった。また、33 株がスクロースを分解せず、トレハロースを分解する *Leuconostoc oenos*、その他、17 株が *Leuconostoc lactis*、14 株が *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*、11 株が *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*、1 株が *Leuconostoc paramesenteroides* にそれぞれ同定された。

原料の生サケ肉には *Lactobacillus* 属ほか 2 属、塩蔵サケ肉には *Streptococcus* 属ほか 2 属、生サケ水晒し肉には *Streptococcus* 属ほか 1 属、塩蔵サケ水晒し肉では *Streptococcus* 属、*Lactobacillus* 属、*Leuconostoc mes-*

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

Items	Ripening period (d)	Aerobic bacteria	Lactic acid bacteria	Yeasts
Fish meat				
Raw		9.0×10^3	6.1×10^3	4.8×10^3
Salted		2.0×10^2	$< 3.0 \times 10^2$	$< 3.0 \times 10^2$
Soaked fish meat				
Raw		4.7×10^3	3.1×10^3	2.5×10^3
Salted		2.6×10^3	5.9×10^2	4.0×10^2
Pickled fish meat				
Raw		5.5×10^2	3.9×10^2	$< 3.0 \times 10^2$
Salted		1.6×10^2	$< 3.0 \times 10^2$	$< 3.0 \times 10^2$
Boiled rice and 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
<i>Izushi</i> R				
Fish meat	2	4.0×10^5	3.9×10^5	5.6×10^5
	19	5.4×10^5	2.7×10^6	2.6×10^6
	36	1.6×10^6	1.9×10^6	1.5×10^6
	51	2.8×10^6	5.3×10^6	2.0×10^6
Sub-materials	2	2.0×10^7	1.8×10^7	1.9×10^7
	19	7.7×10^6	2.0×10^7	2.2×10^7
	36	3.4×10^7	6.2×10^7	5.8×10^7
	51	4.5×10^6	1.3×10^7	1.1×10^7
<i>Izushi</i> S				
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	4.7×10^5	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	1.3×10^7	2.6×10^7	2.5×10^7
	36	3.4×10^7	3.5×10^7	3.8×10^7
	51	1.9×10^7	3.0×10^7	3.0×10^7

Izushi R and S were prepared with raw and salted salmon fillets, respectively.

enteroides subsp. *cremoris*, 仮酢漬け肉には *Streptococcus* 属ほか1属の乳酸菌が認められた。また、米飯・麴類では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ほか *Leuconostoc* 属の2種と1属、野菜類では *Streptococcus* 属ほか2属の乳酸菌が認められた (Fig. 1)。

いずし熟成過程における乳酸菌の菌相の変化を Fig. 2 に示した。R 区の魚肉部では、全熟成期間を通して *Leuconostoc* 属が優勢となり、特に *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 50~72% を占めた。熟成前期の漬け込み2日後・19日後では *Leuconostoc* 属の4種と *Streptococcus* 属, *Pediococcus* 属, *Lactobacillus* 属乳酸菌が認められたが、熟成後期の漬け込み36日後・51日後(製品)では *Leuconostoc* 属以外の球菌は検出されず、*Leuconostoc* 属の4種と *Lactobacillus* 属の乳酸菌が認められた。また、副原料部の漬け込み2日後は、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* は 29% であったが、漬け込み19日後から51日後では 44~67% を占

めた。熟成後期には、*Leuconostoc* 属以外には *Lactobacillus* 属のみが認められた。

S 区においても R 区とほぼ同様の菌相変化の傾向を示し、魚肉部では全熟成期間を通して *Leuconostoc* 属が優勢となり、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が 38~68% を占めた。熟成前期には *Leuconostoc* 属のほかに *Streptococcus* 属, *Pediococcus* 属, *Lactobacillus* 属が、熟成後の製品いずしでは *Leuconostoc* 属のほか *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% を占めた。すなわち、R 区・S 区ともに、漬け込みの当初は、原料に由来する乳酸菌が認められたが、熟成36日以降になると *Leuconostoc* 属がより優勢となり、中でも *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が最優勢種となった。

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いずしの各部位から酵母は総計

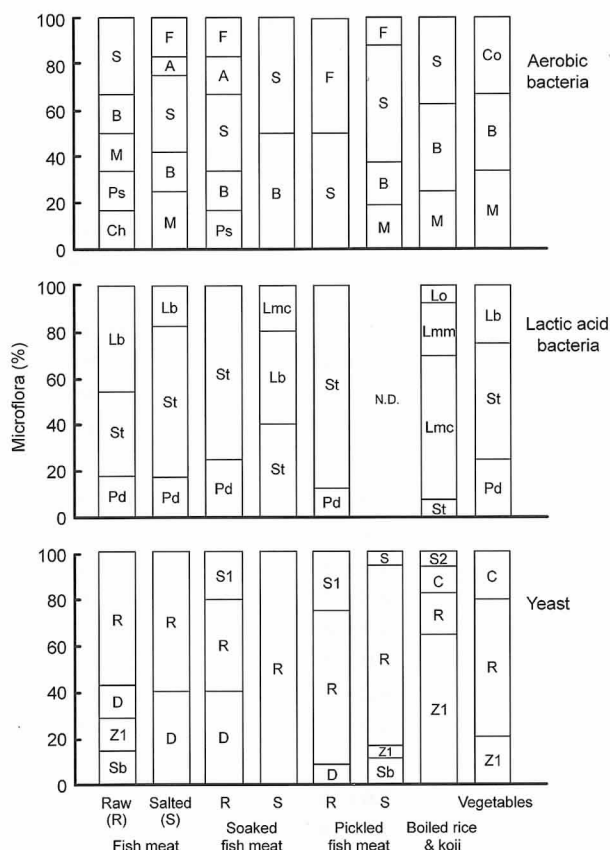


Fig. 1 Microflora of materials for salmon *Izushi* during the pre-treatment process. R and S represent raw and salted salmon fillets, respectively. Columns for aerobic bacteria: S, *Staphylococcus* sp. (21); B, *Bacillus* sp. (12); M, *Micrococcus* sp. (10); F, *Flavobacterium* sp. (6); Ps, *Pseudomonas* sp. (2); A, *Arthrobacter* sp. (2); Ch, *Chromobacterium* sp. (1); Co, *Corynebacterium* sp. (1). For lactic acid bacteria: St, *Streptococcus* sp. (36); Lmc, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (9); Lmm, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (3); Lo, *Leuconostoc oenos* (1); Lb, *Lactobacillus* sp. (11); Pd, *Pediococcus* sp. (10). For yeasts: R, *Rhodotorula* sp. (50); Z1, *Zygosaccharomyces bisporus* (16); D, *Debaryomyces hansenii* (11); S1, *Saccharomyces pastorianus* (6); S2, *Saccharomyces cerevisiae* (1); S, the other species of *Saccharomyces* (1); Sb, *Sporobolomyces* sp. (4); C, *Candida* sp. (4). The numbers of isolates are shown in parentheses.

229株分離され、そのうち、69株が *Saccharomyces cerevisiae* に、11株が *Saccharomyces pastorianus*、1株がその他の *Saccharomyces* 属、27株が *Zygosaccharomyces bisporus*、5株が *Zygosaccharomyces rouxii*、51株が *Rhodotorula* 属、30株が *Debaryomyces hansenii*、25株が *Torulaspora globosa*、1株が *Torulaspora delbrueckii*、5株が *Candida* 属、4株が *Sporobolomyces* 属に同定された。

原料の生サケ肉には、*Rhodotorula* 属ほか3属、塩蔵サケ肉には *Rhodotorula* 属ほか1属、生サケ水晒し肉に

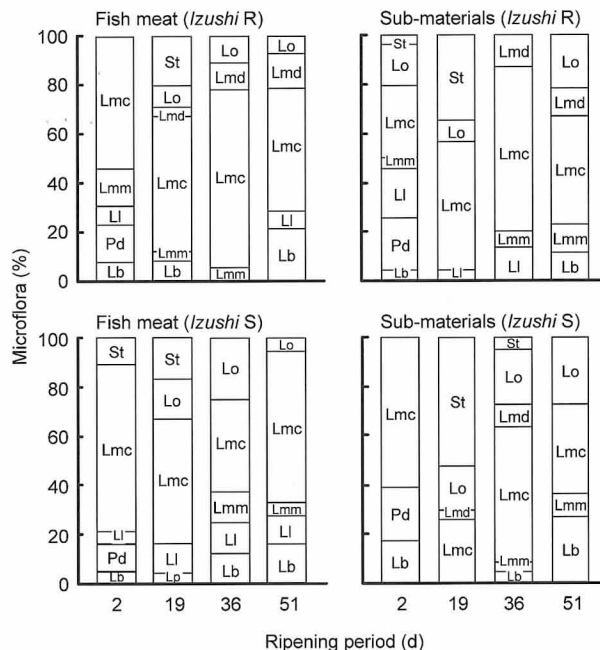


Fig. 2 Lactic acid bacterial flora of salmon *Izushi* during the ripening process. *Izushi* R and S were prepared with raw and salted salmon fillets, respectively. Columns: Lmc, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (148); Lmd, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (11); Lmm, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (11); Lo, *Leuconostoc oenos* (32); LI, *Leuconostoc lactis* (17); Lp, *Leuconostoc paramesenteroides* (1); St, *Streptococcus* sp. (33); Lb, *Lactobacillus* sp. (21); Pd, *Pediococcus* sp. (14). The numbers of isolates are shown in parentheses.

は *Rhodotorula* 属と *Debaryomyces hansenii* ほか1属、塩蔵サケ水晒し肉では *Rhodotorula* 属、生サケ仮酢漬け肉には *Rhodotorula* 属ほか2属、塩蔵サケ仮酢漬け肉では *Rhodotorula* 属ほか3属の酵母が認められた。また、米飯・麴類では *Zygosaccharomyces bisporus* ほか3属、野菜類では *Rhodotorula* 属ほか2属が認められた (Fig. 1)。

いずし熟成過程における酵母の菌相の変化を Fig. 3 に示した。R 区の魚肉部では、漬け込み2日後は *Debaryomyces hansenii* ほか3属、漬け込み19日後は *Torulaspora globosa* ほか1属2種、漬け込み36日後・51日後(製品)では *Saccharomyces cerevisiae* が71~100%を占めた。副原料部では、漬け込み2日後に *Debaryomyces hansenii* が62%を占めたが、漬け込み19日後から51日後では *Saccharomyces cerevisiae* が70~80%を占めた。S 区の魚肉部では、漬け込み2日後と19日後は *Torulaspora globosa* が56~67%を、漬け込み36日後と51日後は *Saccharomyces cerevisiae* が60~100%を占め、副原料部では、漬け込み2日後は *Torulaspora globosa* と *Saccharomyces cerevisiae* のほかに

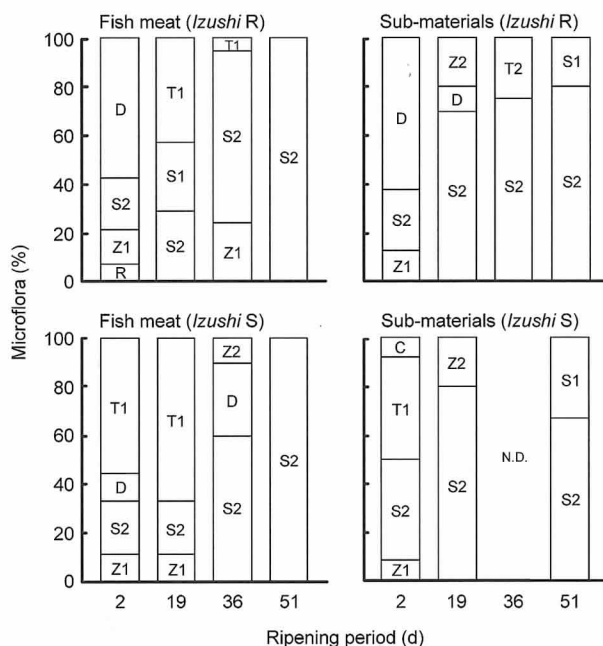


Fig. 3 Yeast flora of salmon *Izushi* during the ripening process. *Izushi* R and S were prepared with raw and salted salmon fillets, respectively. Columns: S1, *Saccharomyces pastorianus* (5); S2, *Saccharomyces cerevisiae* (68); Z1, *Zygosaccharomyces bisporus* (11); Z2, *Zygosaccharomyces rouxii* (5); T1, *Torulaspora globosa* (25); T2, *Torulaspora delbrueckii* (1); D, *Debaryomyces hansenii* (19); R, *Rhodotorula* sp. (1); C, *Candida* sp. (1). The numbers of isolates are shown in parentheses.

2属が検出され、漬け込み19日後と51日後は *Saccharomyces cerevisiae* が80~67%を占めた。すなわち、R区・S区ともに、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、漬け込み36日以降になると単純化され、*Saccharomyces cerevisiae* が優勢種となった。

考 察

漬け込み51日後の製品いずしでは、生サケ肉を用いたR区の魚肉・米飯・野菜類は熟成して甘味と旨味を増して、硬さも適度になったが、塩蔵サケ肉を原料としたS区の魚肉には甘塩味と脆さが認められた。S区の製品いずしの塩分は、魚肉部では4.0%、副原料部では4.4%で、R区と比べて魚肉部では1.5%、副原料部では1.6%多く、塩蔵サケを用いる場合は、フィレー状態で水晒しに加えて、切り身処理後にも水晒しを行って十分脱塩し、漬け込み時の用塩量も減少させる必要がある。また、R区の魚肉に比べてS区の魚肉でわずかに認められた脆さは、下村ら¹⁴⁾が10%散塩処理したサバ肉を同量の食酢に浸漬すると、魚肉は硬く、脆く、かつ砕けやすくなったと報告していることから、魚肉の塩蔵

と酢漬けの両処理が相互に関連していると考えられる。

いずし製造工程における遊離アミノ酸の変化については、原料の生サケ肉に含まれていた遊離アミノ酸は塩蔵処理、水晒し処理によって大きく減少したが、熟成過程に大きく増加した。張ら¹⁵⁾はサバ馴れずし製造中の遊離アミノ酸量について、塩漬けおよび塩抜き工程で遊離アミノ酸の一部が流出によって減少し、その後の本漬け中には各種微生物や酵素類の作用により、各遊離アミノ酸含量は増加するが、一部のアミノ酸はさらに微生物の作用をうけて分解し、減少すると報告している。本報のいずしの遊離アミノ酸の熟成過程における増加は主に魚肉中の自己消化酵素(酸性プロテアーゼ)の作用によると考えられ、呈味性に寄与するグルタミン酸、アラニンをはじめ、ロイシン、リジンなど魚肉タンパク質由来の各種アミノ酸が増加し、最終製品には19種類の遊離アミノ酸が総量でS区・R区とも1300 mg/100 g近く含まれていた。市販いずしの遊離アミノ酸についての角野ら¹⁶⁾の調査では、34種類の遊離アミノ酸が検出され、遊離アミノ酸総量は少なく、108.9~809.3 mg/100 gで平均344.8 mg/100 gと報告されている。これらの市販いずしは原材料の魚種名が明らかでなく、本報の結果と単純に比較はできないが、加工業界では促成法でいずしを製造することが多く、充分熟成過程を経ずに出荷された製品であった可能性がある。

原料肉の微生物は塩蔵と酢漬け処理により死滅する割合が高いが、いずし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た。いずし熟成過程の一般細菌数、乳酸菌数、酵母数は、R区・S区ともに、魚肉部は $10^5 \sim 10^6$ CFU/g台、副原料部は 10^7 CFU/g台であった。また、 10^5 CFU/g台であったR区魚肉部の生菌数は、漬け込み19日から36日後に 10^6 CFU/g台へ増加したが、R区の副原料部とS区の魚肉・副原料部では、前報⁶⁾と同様、漬け込み2日以降大きな変化を示さなかった。

微生物相として、R区・S区ともに漬け込み当初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単純化され、漬け込み36日以降になると、一般細菌では *Bacillus* 属が、乳酸菌では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が、酵母では *Saccharomyces cerevisiae* が優勢種となった (Figs. 1~3)。一般細菌で優勢となった *Bacillus* は大部分が野菜類および麴に由来すると考えられる。*Bacillus* は、漬け物等の乳酸発酵食品においては好ましい細菌ではなく、低pHのために増殖が抑制される条件下にあっても本実験における熟成いずしの *Bacillus* 生菌数 (10^{6-7} CFU/g) は多いレベルであり、これを確実に制御する必要がある。

熟成中における乳酸菌の優勢種はR区・S区とも前報⁶⁾と同様 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* で

あったが、本菌は、原材料中では米飯・麴から多く分離されたことから、米飯・麴に由来すると考えられる。製品いずしには、*Lactobacillus* 属の乳酸菌と *Leuconostoc oenos* も認められた。

Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris* は、チーズや発酵乳のフレーバー生成のため、他の乳酸菌とともに混合スターターとして使用されている。本菌によって産生されるフレーバーとしてはジアセチルやアセトアルデヒドが代表的である。野菜類を主体とする漬物においても、一般的に発酵初期に *Leuconostoc* 属のような乳酸球菌が出現し、発酵の進行に伴って乳酸桿菌の *Lactobacillus* 属が主流となると言われている。¹⁷⁾ また、水産物入り野菜漬物の主要構成細菌として 10^8 CFU/ml 以上の乳酸菌 (*Leuconostoc* 属, *Lactobacillus* 属) の存在が報告されている。^{18,19)} *Leuconostoc oenos* は、これまでワインとその関連物から分離された例のある乳酸菌であるが、発酵食品の熟成にどのように関係しているかは明らかでない。

本報における熟成中の酵母の優勢種は、前報⁶⁾の *Debaryomyces hansenii* と異なり、*Saccharomyces cerevisiae* であった。*Debaryomyces hansenii* は原材料と熟成初期のいずれで検出されたが、後期には全く認められなかった。このことには、いずし原材料の配合割合を変えたことによる pH の違い、すなわち本研究のサケいずしの pH に相当する pH 5.0 付近における *Debaryomyces hansenii* の酢酸に対する感受性が、*Saccharomyces cerevisiae* よりも高い²⁰⁾ ことなどに影響されているかもしれない。また、*Saccharomyces cerevisiae* は、原材料のうち米飯・麴類からのみ検出されており、麴の選択と前処理等が製品いずしの微生物相を決定づける一因になる可能性も示唆している。*Debaryomyces hansenii* の発酵性はあまり高くないが、*Leuconostoc mesenteroides* と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。²¹⁾ 一方、本報における酵母の優勢種 *Saccharomyces cerevisiae* は発酵性が高く、糖からエタノールと CO_2 を生成し、乳酸菌の優勢種 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* と相互に作用し合い、サケいずしに特有の芳香を付与しうると考えられる。しかしながら、R 区・S 区に共通したこれらの優勢菌種は、熟成中において生菌数の著しい増加は示さず、実際にどの程度製品の風味に寄与していたかは不明である。

ボツリヌス菌の増殖と毒素産生は魚肉の水晒し時に起こる可能性が高いことが指摘されており、魚肉を最初から塩漬けしたり、酢で締めるなどの製法上の工夫によりボツリヌス菌の増殖を抑えることが行われてきた。塩蔵原料を使用する場合には必ず塩抜きのために水晒しの工程が必要になる。水晒しは塩抜きのほか、血抜きの目的

でも行われ、塩蔵魚でなくても水晒しが行われてきた。血抜き目的の水晒しの必要性は疑問視されており、²²⁾ 再検討すべきかもしれないが、水晒し工程は食味の改善を目的とした可能性も指摘されている。⁵⁾

ボツリヌス E 型菌芽胞の発芽には魚肉エキ스가有効であり、L-アラニンのほか、グルコース、乳酸、イノシン等が発芽誘因物質として挙げられるが、特に発芽速度と最も相関性を示すのは乳酸とイノシンであるといわれている。²³⁾ したがって、水晒しは、これらの発芽誘因物質を含むエキス成分を抽出する効果を有し、晒し水中でボツリヌス菌が増殖する危険性があるため、ボツリヌス中毒を防止するために最も注意しなければならない工程の一つといえる。本報でも、流水で水晒しを行っており、塩蔵とその後の水晒しで魚肉の低分子成分の流出効果が認められた。また、S 区の遊離アミノ酸は熟成中に R 区と同等に増加したが、S 区の VB-N は熟成過程の増加が抑えられた。塩蔵処理によって各微生物群の生菌数は減少し、水晒し、仮酢漬け後においても塩蔵サケ肉の生菌数は生サケ肉よりも常に低いレベルであった。これらのことは、可食期間の延長に寄与するばかりでなく、実際にボツリヌス菌の消長について効果を検証していないが、ボツリヌス中毒の予防に対しても寄与するかもしれない。

結論として、いずし原料としての塩蔵魚肉の使用は、塩漬、水晒し、酢漬け工程を経て、低分子成分の流出と熟成後の製品のフレーバーとテクスチャーにわずかに影響を及ぼしたが、熟成中における微生物の生菌数、菌相には著しい影響を及ぼさなかった。したがって、塩漬よりも漬け込み前の酢漬け処理工程がいずしの化学的、微生物学的特性に大きな影響を及ぼすことが示唆された。

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、辻 浩司氏に対して、深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 篠田 統. 「すしの本」柴田書店、東京. 1966; 2-14.
- 2) 農商務省水産局. 「日本水産製品誌 全」水産社、東京. 1935; 352-361.
- 3) 岩本 薫. 魚のいずし. 「水産加工品総覧」(野口栄三郎編)光琳書院、東京. 1968; 41-42.
- 4) 安藤芳明, 唐島田 隆, 井上勝弘. 「いずし」におけるボツリヌス E 中毒発生防止に関する研究 第 5 報 魚肉の水晒し期間におけるボツリヌス E 型菌の発育と毒素産生について. 道衛研報 1961; 12: 44-47.
- 5) 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. 食科工誌 1977; 24: 420-431.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2, William & Wilkins, Baltimore. 1986; 999-1103.
- 12) 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.
- 13) Kurtzman CP, Fell JW (eds). *The Yeasts. A Taxonomic Study* 4th ed., Elsevier Science, Amsterdam. 1998; 1-1055.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 宮尾茂雄. 食品有用・腐敗細菌の性質と検査法 4. *Leuconostoc* 属細菌. 防菌防黴 2002; **30**: 383-391.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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-. 食科工誌 1994; **41**: 687-701.
- 21) 伊藤 寛. 漬物類. 「バイオブリザベーション」(森地敏樹, 松田敏生編)幸書房, 東京. 1999; 90-103.
- 22) 日左和夫, 林 賢一, 阪口玄二. E 型ボツリヌス中毒防止を目標とした HACCP に基づくイヅシの製造方法に関する理論的考察. 防菌防黴 1999; **27**: 3-11.
- 23) 安藤芳明. さかなとボツリヌス E 型中毒. 道衛研報 1972; **22**: 112-113.