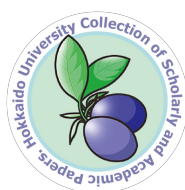




Title	サケいずしの化学的, 微生物学的性状に及ぼすスターター微生物接種の影響
Author(s)	佐々木, 政則; 川合, 祐史; 吉水, 守 他
Citation	日本水産学会誌, 72(2), 231-238 https://doi.org/10.2331/suisan.72.231
Issue Date	2006-03-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53381
Rights	© 2006 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	article133.pdf



サケいずしの化学的、微生物学的性状に及ぼす スターター微生物接種の影響

佐々木政則,^{1*} 川合祐史,² 吉水 守,² 信濃晴雄³

(2005年6月21日受付, 2005年11月4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院,

³北海道立工業技術センター

Effect of inoculation with starter cultures of yeast and lactic acid bacterium
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, ²Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ³Hokkaido Industrial Technology Center, Hakodate, Hokkaido 041-0801, Japan

Two microbial strains of yeast *Saccharomyces cerevisiae* IZS-Sc1 and lactic acid bacterium *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* IZS-Lmc1 were inoculated into salmon *Izushi* as starter cultures for ripening. The strains had previously been isolated from ripened *Izushi* at 5°C. After *Izushi* had been ripened for a cumulative temperature of 280°C·d at 5, 10, 15 and 20°C, investigation of chemical and microbiological characteristics and organoleptic observations were carried out for the ripened *Izushi*. Inoculation of starter cultures accelerated ripening of *Izushi*. In the 5°C-ripened *Izushi*, the inoculated species were dominant, occupying 93-100%, and an organoleptically higher evaluation was obtained. For the *Izushi* ripened at 10, 15 and 20°C, yeast was not detected as well as in those without inocula and a tendency toward excessive ripening was observed. The Effect of ripening temperature on the characteristics of *Izushi* samples inoculated with starter cultures was closely similar to the effect on those without inocula.

キーワード: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, サケいずし, 熟成温度, スターター, 微生物相

チーズや漬物などの農畜産発酵食品を製造する場合、乳酸菌、その他の細菌、カビ、酵母などを純粋培養してスターターとして用いることが多い¹⁾が、水産発酵食品の製造では、かつお節の製造に *Aspergillus glaucus* グループの胞子を噴霧すること²⁾を除き、その例は少ない。しかしながら、森ら³⁾の各種細菌を接種したいか塩辛の細菌相の変化についての研究、加納ら⁴⁾の乳酸菌を利用した発酵カマボコの製造、吉川ら⁵⁾の乳酸菌スターターを用いたホタテガイ発酵食品の開発、堂本ら⁶⁾の麹菌・乳酸菌・酵母を用いた新規魚醤油の開発および舩津ら⁷⁾の醤油麹・乳酸菌を用いた中国ハクレン魚醤油の開発などが試みられている。

いずしへの微生物接種試験としては、神沢と飯田⁸⁾

は、乳酸菌によるボツリヌスE型菌の発育と毒素産生の阻止効果と実際に乳酸菌を添加したいずしの食品としての可能性について報告している。

著者ら⁹⁾は、すでに生サケと塩蔵サケを用いたいずしの低温熟成過程における微生物相の変化について検討し、両区とも漬け込み36日以降に酵母では *Saccharomyces cerevisiae* が、乳酸菌では *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* が優勢種となり、いずしの風味醸成に関与している可能性を報告した。また、これらの優勢微生物種の発現は熟成温度に影響を受けることも明らかにした。¹⁰⁾

本報では、いずしの熟成期間の短縮、品質の向上と安定化を目的として、優勢種であるこれらの酵母と乳酸菌

を熟成スターターとして適用することを試みた。すなわち、熟成サケいずしからあらかじめ分離した *Saccharomyces cerevisiae* と *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* 菌株の濃厚菌液をいずし漬込み時に接種して熟成させ、製品いずしの化学成分と微生物相およびその風味に対する影響について検討した。

試料と方法

供試菌株および接種菌液の調製 供試菌としては、既報⁹⁾の生サケ肉を原料とした製品いずしの魚肉部から分離した *Saccharomyces cerevisiae* IZS-Sc1 株と *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* IZS-Lmc1 株の2菌株を用いた。*Saccharomyces cerevisiae* はポテトデキストロース寒天培地から寒天を除いた培地で前培養 (25°C, 72時間) 後、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* は一般乳酸菌接種用培地 (日水製薬) で前培養 (30°C, 72時間) 後、遠心分離 (3000×g, 15分間) により集菌し、洗浄後3%減菌食塩水に懸濁し、これらを接種用濃厚菌液とした。なお、使用した *Saccharomyces cerevisiae* および *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* の濃度はそれぞれ 4.5×10^9 cells/ml, 1.3×10^9 cells/ml である。

サケいずしの製造方法 本報では、菌液を接種することを出いて、前報¹⁰⁾と全く同じ原材料と製法、熟成条件でサケいずしの調製を行った。すなわち、主原料には北海道余市沖で漁獲されたサケ (*Oncorhynchus keta*) を用い、漁獲後、ドレス状態で-25°Cで2ヵ月間凍結貯蔵したものを解凍してフィレーとし、0.8~1.5°C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6~9mm厚の切り身とし、3°Cの流水で2時間水晒し後布袋に入れ、5°Cの部屋で、8kgの荷重で1時間加圧脱水し、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。漬込みは、樽底に笹の葉を敷き、その上に魚肉、米飯・麴、野菜類を重ね、*Saccharomyces cerevisiae* と *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* の濃厚菌液を10gずつ噴霧し、混合調味料と食塩を散布する工程を9層に分けて繰り返す。全漬込み重量9.0kgに対してそれぞれの菌液を90g使用した。熟成温度は5, 10, 15および20°Cの4つの温度区を設定し、熟成期間は積算温度 (温度と日数との積量) 280°Cを目途として、それぞれ54, 28, 19および15日間とした。2日間はいずれの区分も10°Cの部屋の中に加圧しないで置き、その後は各熟成温度の恒温室に移し、1/3の期間は8kgの荷重で加圧し、その後の2/3の期間は16kgの荷重で加圧して熟成を進めた。熟成中においては、経時的にいずし上澄液の色調、被膜の生成状況および香りなどの観察と官能評価を行った。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。加圧脱水後に得られたいずしの製品歩留りは、5°C区では57.2%, 10°C区では56.8%, 15°C区では51.9%, 20°C区では46.7%であった。

漬込み2日後と各熟成温度における熟成期間終了後に、樽の中層部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) に分けて各種分析に供した。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、採取したいずしの魚肉部と副原料部 (米飯・麴、野菜類など) の色、味、香り、硬さなどの観察および官能評価を行った。

いずしの化学的、微生物学的分析 前報¹⁰⁾と同様に、いずしの各種化学成分の定量と生菌数、菌相の測定を行った。すなわち、樽から取り出したいずしの魚肉部と副原料部の各100gを細切・均質化した後、水分量、塩分量、pH、総酸量、揮発性塩基窒素 (VB-N)、エキス態窒素量、遊離アミノ酸組成を測定した。また、いずしの魚肉部と副原料部の約10gを無菌的に採取し、9倍量の減菌リン酸緩衝液 (pH 7.2) を加えてホモジナイザーで均質化し、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。さらに、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、一般細菌は駒形¹¹⁾の簡易スキームに準拠し、乳酸菌は *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*¹²⁾ および内村、岡田¹³⁾の同定ダイヤグラムに従って、酵母は *The Yeast* (第4版)¹⁴⁾の記載に従って属あるいは種レベルまで同定した。

結 果

いずし熟成過程における官能評価 各温度における熟成中のいずしの官能評価結果をFig. 1に示した。

漬込み直後 (2日後) では、各区分とも芳香はあったが、魚肉・麴・野菜類は未熟で、肉質は食酢の添加により身締りしていた。5°C区では、漬込み7日後に懸濁物・泡・芳香が認められ、24日後に生成した被膜は47日後では全面に広がり、54日後の製品は、いずし特有の芳香が強く、魚肉・米飯・野菜類の甘味・旨味も強く感じられた。10°C区でも、漬込み7日後に懸濁物・泡・芳香が認められ、12日後に生成した被膜は19日後に全面に拡大し、21日以降では厚い被膜が増え、28日後の製品は、いずし特有の芳香を呈した。しかし、米飯・野菜類に甘味はあったが、旨味が不足しており肉質に脆さが認められた。15°C区では、漬込み7日後には液汁が

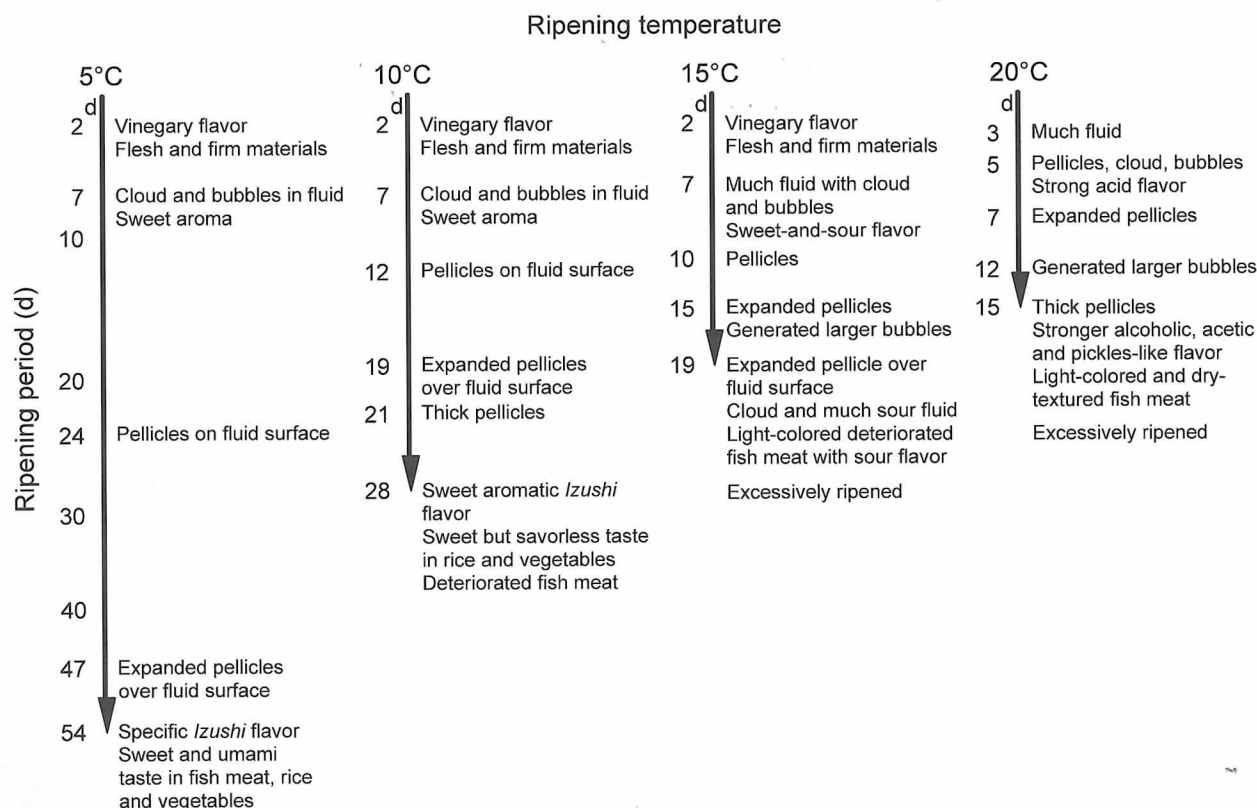


Fig. 1 Organoleptic observations of salmon *Izushi* inoculated with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* during ripening process at various temperatures. *Izushi* samples were initially kept for 2 d at 10°C and then ripened at various temperatures while loading with stone weights.

増加し、甘酸っぱい香り、懸濁物および泡が生成し、10日後に生成した被膜は15日後に拡大して大きな泡が認められ、19日後には被膜が全面を覆い、液汁は白濁し、強い酸臭を発生した。また、製品いずし（19日後）は白っぽく、酸味と酸臭があり、肉質にも脆さが認められた。20°C区では、漬込み3日後の液汁が他の区分より多く、5日後には被膜、懸濁物、泡および強い酸臭が発生し、7～9日後には被膜が全面を覆い、12日後には大きな泡が発生し、15日後にはアルコール臭が強く、厚い被膜が全面を覆った。製品いずし（15日後）は白っぽく、酸味と酢酸臭・漬け物臭が強く、肉質にはパサつきが認められた。

いずし熟成過程における化学成分の変化 いずし熟成過程における液汁のpHと総酸量の変化をFig. 2に示した。熟成初期（10°Cで2日後）のpHは4.7であったが、その後、5°C区と10°C区は上昇傾向を示し、前者の熟成54日後は4.9、後者の28日後は4.8となった。しかし、15°C区と20°C区のpHは低下し、前者の熟成15～19日後には4.6～4.3、後者の熟成7～15日後には4.2～3.9となった。これらのpHの変化は総酸量の変化とほぼ対応していた。

いずしの魚肉部と副原料部の化学成分組成をTable 1

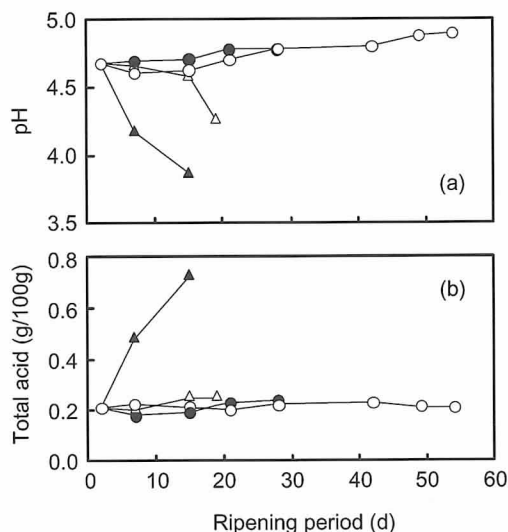


Fig. 2 Changes in pH value (a) and total acid content (b) of salmon *Izushi* inoculated with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* during the ripening process at various temperatures. *Izushi* samples were initially kept for 2 d at 10°C and then ripened at various temperatures while loading with stone weights. Symbols: ○, 5°C; ●, 10°C; △, 15°C; ▲, 20°C.

Table 1 Chemical characteristics of salmon *Izushi* inoculated with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* and ripened at various temperatures

Items	Ripening temperature (°C)	Ripening period (d)	pH	Total acid (g/100 g)	VB-N (mg/100 g)	Extractive-N (mg/100 g)	Moisture (g/100 g)	Salt (g/100 g)
Fish meat	10	2	4.8	0.39	5.0	600	67.7	2.2
	5	54	4.7	0.48	9.8	510	62.6	2.3
	10	28	4.6	0.54	28.2	550	62.4	2.6
	15	19	4.2	0.77	46.0	510	64.7	2.4
	20	15	4.1	1.00	51.2	840	60.4	2.5
Sub-materials	10	2	5.0	0.28	3.5	280	74.6	2.2
	5	54	5.0	0.37	7.7	380	72.0	2.3
	10	28	4.9	0.41	13.5	350	72.7	2.4
	15	19	4.5	0.65	42.0	420	71.8	2.4
	20	15	4.3	0.83	42.0	520	70.9	2.7

Izushi samples were initially kept at 10°C for 2 d and then ripened at various temperatures loading with stone weights for a cumulative temperature 280°C·d.

Table 2 Free amino acid compositions of salmon *Izushi* inoculated with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* and ripened at various temperatures (mg/100 g)

Amino acid	Fish meat					Sub-materials				
	10°C 2 d	5°C 54 d	10°C 28 d	15°C 19 d	20°C 15 d	10°C 2 d	5°C 54 d	10°C 28 d	15°C 19 d	20°C 15 d
Taurine	19	14	12	14	27	15	16	14	15	16
Aspartic acid	5	21	25	29	60	tr	23	26	28	64
Threonine	20	64	72	70	98	42	70	83	80	118
Serine	9	31	34	35	60	9	34	39	41	70
Glutamic acid	14	53	64	76	135	12	54	67	70	147
Proline	5	33	31	27	38	3	34	34	33	39
Glycine	6	20	24	34	91	6	23	26	39	110
Alanine	19	59	74	77	153	2	68	85	93	192
Valine	10	47	54	56	78	10	50	64	65	96
Methionine	9	46	47	44	63	7	49	53	47	74
Isoleucine	6	39	44	43	56	6	42	49	51	66
Leucine	20	95	102	101	146	17	103	113	112	171
Cystine	ND	ND	ND	9	32	ND	ND	tr	11	39
Tyrosine	8	65	58	31	15	7	55	55	23	9
Phenylalanine	20	77	71	63	62	17	74	68	55	61
Lysine	39	127	130	117	167	31	130	139	125	193
Histidine	9	21	21	19	31	8	23	24	23	37
Arginine	13	72	59	3	ND	13	72	65	1	2
Total	231	884	922	848	1312	228	920	1004	912	1504

Izushi samples were initially kept at 10°C for 2 d and then ripened at various temperatures loading with stone weights for a cumulative temperature 280°C·d.

tr: trace (<1.0 mg/100 g).

ND: not detected.

に示した。製品いずしでは、5°C から 20°C へ熟成温度が高くなると、魚肉部と副原料部ともに、総酸・VB-N・エキス態窒素は多い傾向を示した。また、両部位ともに、20°C 区は 5, 10 および 20°C 区と比較して、水分が少なく、塩分がやや多い傾向を示した。

いずしの遊離アミノ酸組成を Table 2 に示した。熟成

初期 (2 日後) の魚肉部にはリジン, スレオニン, ロイシン, フェニルアラニン, タウリンおよびアラニンなど 17 種類の遊離アミノ酸が検出され、総量で 231 mg/100 g 含まれていた。製品いずしでは、熟成初期の魚肉部に比べ熟成中のタウリンの変化は少なかったが、リジン, ロイシン, アラニンおよびグルタミン酸などの増加によ

Table 3 Microbial counts of salmon *Izushi* inoculated with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* and ripened at various temperatures

Items	Ripening temperature (°C)	Ripening period (d)	Aerobic bacteria (CFU/g)	Lactic acid bacteria (CFU/g)	Yeast (CFU/g)
Fish meat	10	2	6.7×10^6	1.3×10^6	1.0×10^6
	5	54	3.2×10^7	3.0×10^6	2.8×10^6
	10	28	6.6×10^7	1.0×10^8	ND
	15	19	2.5×10^9	3.0×10^9	ND
	20	15	6.0×10^9	6.8×10^9	ND
Sub-materials	10	2	5.7×10^7	2.5×10^7	7.5×10^7
	5	54	8.7×10^7	7.0×10^8	1.0×10^7
	10	28	3.9×10^8	5.3×10^8	ND
	15	19	8.3×10^9	2.8×10^{10}	ND
	20	15	2.3×10^{10}	1.0×10^{10}	ND

Izushi samples were initially kept at 10°C for 2 d and then ripened at various temperatures loading with stone weights for a cumulative temperature 280°C·d.

ND: not detected.

り、5°C区、10°C区および15°C区とも遊離アミノ酸総量は900 mg/100 g程度まで増加し、とくに20°C区は1312 mg/100 gと多かった。また、副原料部も同様の傾向を示した。

各熟成温度で製造したいずしの生菌数 いずしの一般細菌、乳酸菌、酵母の生菌数をTable 3に示した。熟成初期(10°Cで2日後)の一般細菌の生菌数は、魚肉部の 6.7×10^6 CFU/gに比べて副原料部が 5.7×10^7 CFU/gと多かった。製品いずしでは、魚肉部と副原料部の菌数はそれぞれ、5°C区は 3.2×10^7 CFU/gと 8.7×10^7 CFU/g、10°C区は 6.6×10^7 CFU/gと 3.9×10^8 CFU/g、15°C区は 2.5×10^9 CFU/gと 8.3×10^9 CFU/g、20°C区は 6.0×10^9 CFU/gと 2.3×10^{10} CFU/gで、とくに15°C区と20°C区の菌数が多い傾向を示した。

熟成初期の乳酸菌数は、魚肉部の 1.3×10^6 CFU/gに比べて副原料部が 2.5×10^7 CFU/gと多かった。製品いずしでは、15°C区と20°C区の菌数が多い傾向を示し、魚肉部と副原料部の菌数はそれぞれ、5°C区では 3.0×10^6 CFU/gと 7.0×10^8 CFU/g、10°C区では 1.0×10^8 CFU/gと 5.3×10^8 CFU/g、15°C区では 3.0×10^9 CFU/gと 2.8×10^{10} CFU/g、20°C区では 6.8×10^9 CFU/gと 1.0×10^{10} CFU/gであった。

熟成初期の酵母数は、魚肉部では 1.0×10^6 CFU/g、副原料部では 7.5×10^7 CFU/gであった。製品いずしでは、5°C区の魚肉部は 2.8×10^6 CFU/g、副原料部は 1.0×10^7 CFU/gであったが、10°C区、15°C区および20°C区の製品いずしからは酵母を分離できなかった。このように、各グループの微生物の生菌数は熟成初期と製品いずしともに、副原料部が魚肉部と比較してわずかに多い傾向を示した。また、製品いずしの一般生菌数と乳酸菌数は、熟成温度の高い区分(15°C区、20°C区)ほど菌

数が多い傾向を示したが、酵母が検出されたのは5°C区のみであった。

各熟成温度で製造したいずしの一般細菌相 漬込み初期(2日後)と各熟成温度で製造したサケいずしから、一般細菌は223株分離され、そのうち、182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、34株が*Micrococcus*属、7株が*Staphylococcus*属に包含される菌株であった。

サケいずしの一般細菌相をFig. 3に示した。熟成初期には、魚肉部と副原料部はそれぞれ*Bacillus*属が83%と77%、*Micrococcus*属が17%と23%を占めていた。製品いずしをみると、魚肉部と副原料部はそれぞれ、5°C区では*Bacillus*属が70%と62%、*Micrococcus*属が30%と23%、10°C区では*Bacillus*属が63%と50%、*Micrococcus*属が37%と33%、15°C区では*Bacillus*属が100%、20°C区では*Bacillus*属が93%と100%、また、*Micrococcus*属が魚肉部のみで7%認められた。この他に、5°Cと10°C区の副原料部では、*Staphylococcus*属がそれぞれ15%と17%認められた。すなわち、熟成2日後と製品いずしを通して、一般細菌では*Bacillus*属が優勢で、とくに15°C区と20°C区の製品いずしでは93%以上を占め、このような傾向は前報¹⁰⁾と同様であり、スターター使用の有無による違いも認められなかった。

各熟成温度で製造したいずしの乳酸菌相 漬込み初期(10°Cで2日後)と各熟成温度で製造したサケいずしから乳酸菌は総計200株分離され、そのうち、141株は、ヘテロ発酵型乳酸連鎖球菌であり、*Leuconostoc mesenteroides*に同定された。また、54株がホモ発酵型乳酸連鎖球菌である*Enterococcus faecalis*に、残りの5株はホモ発酵型四聯乳酸球菌の*Pediococcus acidilactici*に相当す

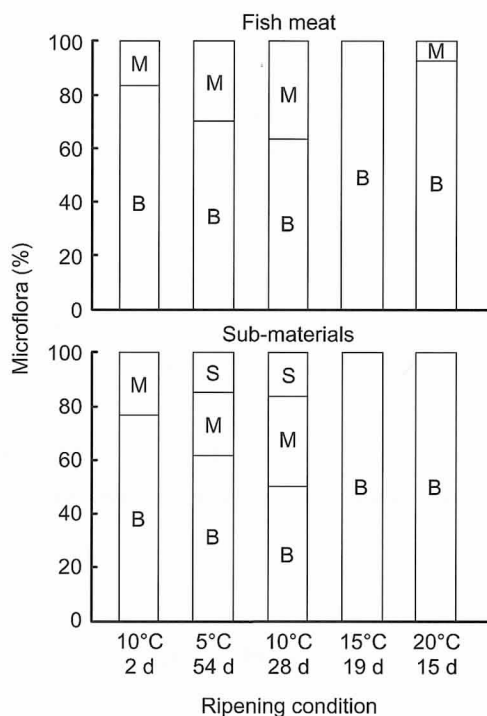


Fig. 3 Aerobic bacterial flora in the products of salmon *Izushi* inoculated and ripened with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. Ripening conditions are shown as temperature, °C and period, d. *Izushi* samples were initially kept for 2 d at 10°C and then ripened at various temperatures while loading with stone weights. Columns: B, *Bacillus* spp. (182); M, *Micrococcus* spp. (34); S, *Staphylococcus* spp. (7). The numbers of isolates are represented in parentheses.

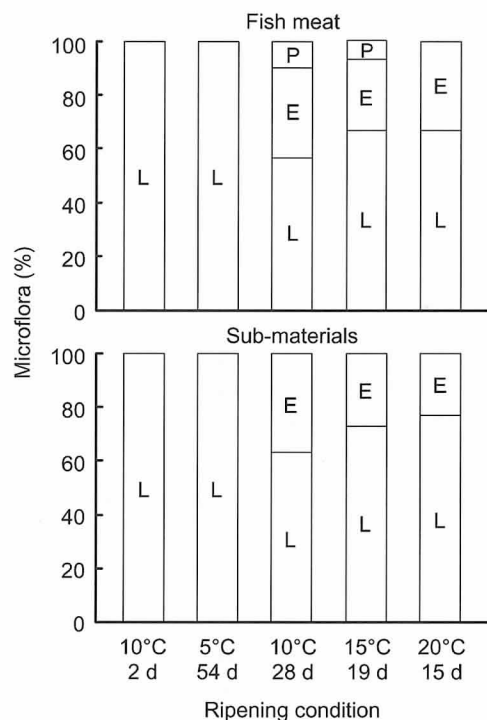


Fig. 4 Lactic acid bacterial flora in the products of salmon *Izushi* inoculated and ripened with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. Ripening conditions are shown as temperature, °C and period, d. *Izushi* samples were initially kept for 2 d at 10°C and then ripened at various temperatures while loading with stone weights. Columns: L, *Leuconostoc mesenteroides* (141); E, *Enterococcus faecalis* (54); P, *Pediococcus acidilactici* (5). The numbers of isolates are represented in parentheses.

る菌株であった。

サケいずしの乳酸菌の菌相を Fig. 4 に示した。熟成初期には、魚肉部・副原料部ともに接種菌株に相当すると考えられる *Leuconostoc mesenteroides* が 100% を占めていた。製品いずしをみると、魚肉部と副原料部はともに、5°C 区では *Leuconostoc mesenteroides* が 100% を、10°C 区ではそれぞれ *Leuconostoc mesenteroides* が 57% と 63%, *Enterococcus faecalis* が 33% と 37% を、15°C 区ではそれぞれ *Leuconostoc mesenteroides* が 67% と 73%, *Enterococcus faecalis* が 26% と 27% を、20°C 区では *Leuconostoc mesenteroides* がそれぞれ 67% と 73%, *Enterococcus faecalis* が 33% と 23% を占め、この他に 10°C 区と 15°C 区の魚肉部では *Pediococcus acidilactici* がそれぞれ 10% と 7% 認められた。すなわち、熟成初期と各温度で熟成後の製品いずしを通して、乳酸菌では接種菌株が含まれる *Leuconostoc mesenteroides* が優勢であり、とくに低温下 (5°C 区) で高い存在比率を示した。

各熟成温度で製造したいずしの酵母の菌相 漬込み初

期 (2 日後) と 5°C で熟成したサケいずしから酵母は総計 120 株分離された。これらの酵母の中で 115 株が *Saccharomyces cerevisiae* に、4 株が *Pichia anomala*, 1 株が *Debaryomyces hansenii* に同定された。

サケいずしの酵母の菌相を Fig. 5 に示した。熟成初期には、魚肉部と副原料部ともに接種菌株に相当すると考えられる *Saccharomyces cerevisiae* がそれぞれ 93% と 97%, *Pichia anomala* が 7% と 3% を占めた。5°C 区の製品いずしは、魚肉部では *Saccharomyces cerevisiae* が 100% を占めたが、副原料部では *Saccharomyces cerevisiae* が 93%, *Pichia anomala* が 3%, *Debaryomyces hansenii* が 3% 認められたが、10°C 区、15°C 区および 20°C 区の製品いずしからは酵母を分離できなかった。すなわち、熟成 2 日後と 5°C 区の製品いずしで *Saccharomyces cerevisiae* が優勢種となることはスターター非接種の場合¹⁰⁾と同様であるが、スターター接種の場合はスターター非接種の場合に比べてより高比率 (93% 以上) を示した。

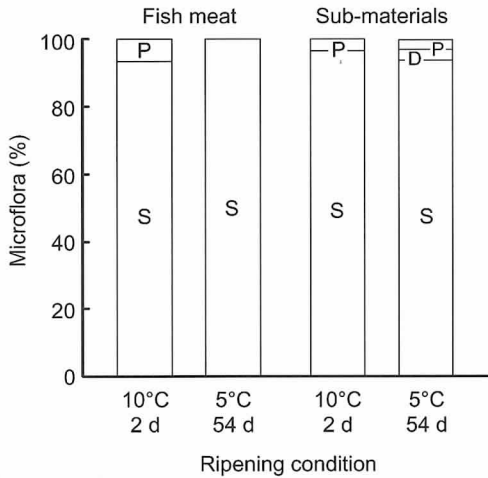


Fig. 5 Yeast flora in the products of salmon *Izushi* inoculated and ripened with strains of *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. Ripening conditions are shown as temperature, °C and period, d. *Izushi* samples were initially kept for 2 d at 10°C and then ripened at various temperatures while loading with stone weights. Yeast was not detected in the *Izushi* ripened at 10, 15 and 20°C. Columns: S, *Saccharomyces cerevisiae* (115); P, *Pichia anomala* (4); D, *Debaryomyces hansenii* (1). The numbers of isolates are represented in parentheses.

考 察

本報では、熟成サケいずしから優勢菌として分離された *Saccharomyces cerevisiae* IZS-Sc1 株の 4.5×10^9 cells/ml, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* IZS-Lmc1 株の 1.3×10^9 cells/ml の濃厚菌液を、それぞれサケいずしの全漬込み重量に対し 1.0% (w/w) の割合で接種したが、これらの 2 菌株は、漬込み初期 (2 日後) の酵母と乳酸菌の菌数中のそれぞれ 57% と 52% に相当している。これまでの微生物の接種試験例では、森ら³⁾は用塩量 10% のいか塩辛を対照試料として、優勢種である *Staphylococcus subgroup II* 以外の細菌 4 株を仕込み直後の菌相中で約 50% 以上になるように接種し、その後の熟成中の菌相変化を観察している。その結果、全試料の熟成期間を通じ、その菌相中で優勢となる傾向の強かった *Staphylococcus subgroup II* は、通常用塩量 10~20% のいか塩辛が形成する種々の環境条件に適合して増殖するものと考えられた。発酵乳製品における乳酸菌スターターの添加量は、森地¹⁾によると、製品によって多少異なるが、普通は 10^{11} cells/ml 前後の菌濃度で原料乳の 1~3% 程度である。加納ら⁴⁾は乳酸菌をすり身に対して終濃度 2.5×10^8 cells/g 添加して発酵かまぼこを製造している。また、吉川ら⁵⁾は、ホタテガイ発酵食品の場合、乳酸菌スターター (6.8×10^8 CFU/g) の添加量はホタテガイ貝柱重量の 1.5~14.7% の間で製造可

能であると報告している。

いずしへの微生物接種試験は神沢と飯田⁸⁾の研究例がある。その中で、乳酸菌 *Streptococcus lactis* と *Thermobacterium bulgaricum* (現在ではそれぞれ *Lactococcus* 属および *Lactobacillus* 属に含まれる種と考えられる) が魚肉培地においてボツリヌス E 型菌の発育と毒素の産生を阻止し得ることを認めている。さらにいずしの製造に当たっては、これらの乳酸菌を添加すると、ボツリヌス E 型菌の毒素産生を阻止する上でかなり有効であることを確認している。原料魚種やいずしの調製方法が異なるため、本報と単純に比較できないが、とくに *Streptococcus lactis* を用いたカレイいずしは、室温 (約 20°C) で 1 週間放置後氷室に置き、3 週間後に試食した結果、やや熟成が不十分で、かつ塩がききすぎていたが、芳香を有し十分賞味に耐えると報告している。しかしながら、これら乳酸菌の接種量や熟成過程における動態については検討していない。また、安藤と唐島田¹⁵⁾は、実際にいずしに乳酸菌を利用する場合の条件として、ボツリヌス E 型菌と *Lactobacillus arabinosus* および *Streptococcus lactis* をそれぞれ同時に接種した実験では、毒素産生阻止には少なくともボツリヌス E 型菌芽胞数に対して 100 倍以上の乳酸菌を接種することが必要であると報告している。しかしながら、その後、いずしの加工に乳酸菌のスターターカルチャーを使用する例は認められず、松田¹⁶⁾は、いずしにおけるボツリヌス E 型菌による食中毒の度重なる発生は、乳酸菌スターターを利用しなかったことが一因であると報じている。

いずしの熟成過程を観察すると、いずれの熟成温度においても酵母と乳酸菌のスターターを接種しなかった場合¹⁰⁾の結果と比較して、被膜生成などの変化が早期に現れ、熟成が速く進行していることが観察されとともに、さらに 5°C 区の製品ではいずし特有の風味が強く感じられた。すなわち、スターターの酵母と乳酸菌を接種することは、熟成を早めるとともに、低温熟成の併用によっていずしの風味を向上させる効果も認められた。しかしながら、高い温度区 (10, 15 および 20°C) では、熟成温度の影響が大きく、急速に熟成が進むため、肉質の脆さや強い酸味および酸臭が生成したものと考えられる。酸生成能の高い乳酸菌を使用して、速やかにいずしの pH を低下させることは、ボツリヌス菌の制御のためには有効であるが、同時に、いずしの品質の保持についても考慮する必要がある。また、スターターの接種による熟成の促進は、いずしの製品歩留りにも影響を与え、非接種の場合¹⁰⁾と比較して低温熟成でも約 1% 低下した。熟成過程の液汁の pH の変化についても、とくに 20°C 区の低下が速く、人為的にスターターを接種した影響が認められた。このことは、総酸量にも反映され、

5, 10 および 15°C 区の変化は小さかったが, 20°C 区での増加は大きかった。さらに, 製品いずしの化学成分では, 20°C 区は 5, 10 および 15°C 区と比べて, 水分が少なく, 総酸量とエキス態窒素および遊離アミノ酸総量が多いことに影響しているものと考えられる。

熟成 2 日後と 5°C 区の製品いずしの酵母と乳酸菌の生菌数は, 前報¹⁰⁾の結果より多い傾向を示したが, これは人為的にスターターを接種したためと考えられる。しかしながら, 10°C 以上の温度で熟成した場合には, 一般細菌数と乳酸菌数は熟成温度の高い区分ほど多い傾向を示し, 酵母は検出できなかったが, この理由は前報¹⁰⁾と同様に, 乳酸菌が酵母より先に増殖して優勢となり, 酵母の増殖できない環境条件になったためと考えられる。一般細菌では, 魚肉部および副原料部ともに *Bacillus* 属が優勢であり, スターター非接種の場合¹⁰⁾と同様の結果であった。乳酸菌では, 優勢種非接種の場合¹⁰⁾と同様に, 魚肉部と副原料部を通し *Leuconostoc mesenteroides* が優勢であったが, スターター接種の影響は, 漬け込み 2 日後の副原料部と 5°C 区での製品いずしの魚肉部と副原料部の乳酸菌の全てが *Leuconostoc mesenteroides* で占めていることに現れているものと考えられる。酵母をみると, 魚肉部と副原料部ではともに *Saccharomyces cerevisiae* が優勢であり, この菌株が漬け込み 2 日後と 5°C 区の製品いずしのみから検出されたことは, スターター非接種の前報¹⁰⁾と同様の結果であった。しかしながら, スターター接種の影響は, 漬け込み 2 日後と 5°C 区の製品いずしから検出された酵母の 93% 以上を *Saccharomyces cerevisiae* が占めていることに現れているものと考えられる。

乳酸菌は食品の保存性の向上や風味の改良などの目的で積極的に利用されている。これは, 乳酸菌によって生成される乳酸や酢酸が食品中の有害菌の増殖を抑制し, また, 菌種によっては, 過酸化水素やバクテリオシンなどの拮抗性物質およびアルコールやジアセチルなどの芳香性成分を生成するためとされている。¹⁷⁾ 酵母の生育に対する乳酸菌の抑制効果についてはまだ定説がないようであるが, *Bacillus* 芽胞は乳酸菌が十分発育した条件下でも生き残るとされている。¹⁸⁾ 本報においても *Bacillus* 属を中心とした一般細菌は乳酸菌の増加によっても抑制されない傾向を示した。

以上の結果から, いずし漬け込み時にスターターの酵母と乳酸菌を大量に接種することにより熟成が促進され, 熟成温度の低い 5°C 区では菌相にも反映され, 風味の向上効果も認められたが, 熟成温度の高い 10, 15 および 20°C 区では, 熟成完了時の製品いずしの菌相にはほとんど影響しないが, むしろ熟成過多となった。このことは, サケいずし製品の優勢種の形成には, 熟成中の温度などの環境要因が強く働いていることを示唆してい

る。酵母・乳酸菌の単独接種やそれぞれの接種量といずしの風味との関係など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) 森地俊樹. スターター. 日食工誌 1986; 33: 226.
- 2) 藤井建夫. 「魚の発酵食品」成山堂書店, 東京. 2002; 126.
- 3) 森 勝美, 信濃晴雄, 秋場 稔. いか塩辛の微生物学的研究-IV 各種細菌を接種したいか塩辛の菌相変化. 北大水産彙報 1983; 34: 355-360.
- 4) 加納 哲, 橋本信宏, 伊藤芳直, 土井梅幸, 丹羽栄二. 乳酸菌を利用したカマボコの製造. 日食工誌 1992; 39: 519-523.
- 5) 吉川修司, 浅野行蔵, 太田智樹, 佐々木茂文, 富永一哉, 下林義昭. 乳酸菌スターターを用いたホタテガイ発酵食品の開発. 食科工 2002; 49: 53-56.
- 6) 堂本信彦, 王 鏗智, 森 徹, 木村郁夫, 郡山 剛, 阿部宏喜. 穀醤油醸造技術を応用した新規魚醤油の開発. 日水誌 2001; 67: 1103-1109.
- 7) 船津保浩, 川崎賢一, 袁 春紅, 内田基晴, 里見正隆, 福田 裕. 醤油麹および乳酸菌を用いて調製した中国ハクレン魚醤油と中国市販魚醤油の揮発成分の比較. 食科工 2002; 49: 106-118.
- 8) 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.
- 9) 佐々木政則, 川合祐史, 吉水 守, 信濃晴雄. サケいずしの化学的, 微生物学的性状に及ぼす原料サケ塩蔵の影響. 日水誌 2005; 71: 618-627.
- 10) 佐々木政則, 川合祐史, 吉水 守, 信濃晴雄. サケいずしの化学的, 微生物学的性状に及ぼす熟成温度の影響. 日水誌 2006; 72: 223-230.
- 11) 駒形和男. 細菌(1)—好気性細菌. 「微生物の分離と同定」(改訂版) (下) (長谷川武治編) 学会出版センター, 東京. 1985; 99-161.
- 12) Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986; 999-1103.
- 13) 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.
- 14) Kurtzman CP, Fell JW (eds). *The Yeasts, a taxonomic study* 4th ed. Elsevier Science, Amsterdam. 1998; 1-1055.
- 15) 安藤芳明, 唐島田 隆. 「いずし」におけるボトリヌス E 型中毒発生防止に関する研究 第 6 報 毒素産生に及ぼす乳酸菌の拮抗作用. 道衛研報 1962; 13: 50-53.
- 16) 松田敏生. バイオプリザベーションとは—食品にやさしい殺菌—. 「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; 1-7.
- 17) 光岡知足. 乳酸菌の効用と新しい利用分野. 日食工誌 1984; 31: 285-296.
- 18) 森地敏樹. 食品保蔵における乳酸菌の利用. 食科工 2002; 49: 207-219.