

## ブナシロサケの新規魚醤油の開発

谷口（山田）亜樹子（管理栄養学科・准教授）・浦川 由美子（管理栄養学科・准教授）  
坂井 孝（管理栄養学科・准教授）・山崎 俊介（管理栄養学科・准教授）  
若林 素子（管理栄養学科・准教授）・高橋 ひとみ（家政保健学科・准教授）

### 緒言

魚醤油は魚介類に多量の食塩を添加して漬け込み熟成させた調味料であり、最近、麵つゆやたれの隠し味として需要が増えている。現在、魚醤油の製造においては、熟成期間の短縮やうま味成分のアミノ酸量を増加させるため、微生物起源のプロテアーゼ製剤、醤油麴、アミノ酸および有機酸の添加など様々な方法が検討されている。本研究ではブナ化したシロサケの有効利用の方策のひとつとして、プロテアーゼおよびコラーゲナーゼ製剤を用い、速醸法による魚醤油を開発することを目的とした。

平成23年度は、市販酵素製剤を用い、短期間による熟成を試み、酵素剤の影響をみるため、魚肉に内蔵ホモジネートのみを加えた魚醤油、内蔵ホモジネートの他、プロテアーゼ製剤を添加した魚醤油、さらに、内臓にプロテアーゼ、コラーゲナーゼ製剤添加した魚醤油の3種の魚醤油を製造した。それぞれを内蔵添加区、プロテアーゼ添加区、コラーゲナーゼ添加区とし、以下製造法および性状を検討したので、報告する。

### 方法

#### 1. 原料

シロサケ *Oncorhynchus keta* は産卵期に表皮に婚姻色が現れブナ毛となり、ブナ化する。ブナ毛度合の格付け基準<sup>1)</sup>は銀毛、Aブナ、Bブナ、CブナおよびDブナの5段階があるが、本研究は体長約65cm、体重約4kgのAブナを用いた。Aブナは若干婚姻色がみられ、Cブナは婚姻色が強くなり、絶食状態であるため成分が消耗し、食味が低下し、商品価値が低下する（Fig. 1）。本研究ではAブナを用い、魚醤油の原料とした。

A grade



C grade



Fig.1 Chum salmon *Oncorhynchus keta* of the maturation

## 2. 酵素製剤

使用したプロテアーゼ製剤は、プロテアーゼA（天野製薬、起源 *Aspergillus oryzae*）であり、性状は中性プロテアーゼで、最適 pH は7.0、最適温度は50°Cであった。酵素の活性量は基質にカゼインを用い、kunitz 法<sup>6)</sup>にて測定し、37°C、1分間に1  $\mu$  mol のチロシンに相当する分解液の280nmの吸光度の増加させる酵素力価を1unit とした。

コラーゲナーゼ製剤はコラーゲナーゼ（シグマ社製、起源 *Clostridium histolyticum*）を用いた。最適 pH は7.5で最適温度は40°Cであった。酵素の活性量はTNBS法<sup>7)</sup>にて測定し、37°C、1分間に1  $\mu$  mol のフェニルアラニンを遊離する酵素力価を1unit とした。

## 3. 魚醤油の調製

サケより内蔵、頭部、ひれ、尾部および骨を除去し、得られた魚肉を生理食塩にて洗浄後、5cm×2.5cm に細断した。魚肉量に対し食塩を25%（w/w）加え、これにホモジネートした内蔵を添加し、混合した後、30°Cで120日間熟成させたものを内蔵添加区とした。内蔵添加区にプロテアーゼ製剤 2,500units を添加したものをプロテアーゼ添加区とし、さらにプロテアーゼ添加区にコラーゲナーゼ 100 units を添加したものをコラーゲナーゼ添加区とした。ホモジネートした内臓は魚肉の3%添加し、これはプロテアーゼ 10,000units の活性量に相当した。経時的にガーゼで濾過し、試料液を採取し、分析に供した。

## 4. 一般成分の分析

水分<sup>8)</sup>は赤外線水分測定器（Mettler 社製、LP16）を用い、135°Cで測定した。タンパク質、可溶性全窒素量はケルダール分解法<sup>9)</sup>、脂肪はソックスレー抽出法<sup>10)</sup>、灰分は直接灰化法<sup>11)</sup>で測定した。pH の測定は pH メーター（堀場社製）を用い、ホルモール態窒素、酸度、塩分の測定は醤油分析法<sup>12)</sup>に準じた。

## 5. 遊離アミノ酸の測定

試料は遠心濾過用マイクロチューブ（日本ミリポア工業社製、分画分子量4,000）を用いて濾過し、NBD ラベリング処理した。分析は HPLC により行い、カラムは ODS-80TS、3.2mmID×150mm（東ソー社製）、検出器は F-1050 型分光光度計（日立製作所）を使用した。移動相は 0.1M クエン酸ナトリウム緩衝液（pH6.2）、50%アセトニトリル溶液-水（50:50）の2液のグラジエント溶液を用い、流速1.0ml/min、カラム温度43°C、励起波長470nm、蛍光波長530nmにて検出した。

## 結果および考察

### 1. 原料の一般成分

ブナシロサケ肉質の成分値を Table 1 に示した。水分は69.3%、タンパク質22.7%、脂質6.8%、灰分は1.2%であった。日本食品標準成分表2010<sup>13)</sup>によるシロサケの成分は水分72.3%、タンパク質22.3%、脂質4.1%、灰分1.2%と本原料と大きな差はみられなかった。ブナ化の度合いが強くなるに従い、水分が増加し、脂質が減少することが知られている<sup>1)</sup>が、本原料はAブナとランクが高いため、同様の値を示したものと思われた。

Table 1 Analysis of meat of salmon *Oncorhynchus keta*

	%
Water	69.3
Crude protein	22.7
Lipid	6.8
Lipid	1.2

## 2. 酸度および pH の経時的変化

魚醤油熟成中の滴定酸度の経時的変化について検討した結果 (Fig.2)、酸度は pH と相関性を示し、pH の低下した順であるコラーゲナーゼ、プロテアーゼ、内蔵添加区の順に酸度の増加がみられ、コラーゲナーゼ添加区では内蔵添加に比べ、1.4倍、酸度が上昇した。pH の経時的変化を Fig. 3 に示した。酸度の上昇が大きかったプロテアーゼおよびコラーゲナーゼ添加区の pH は仕込30日後から徐々に低下し、120日後の pH は pH5.3~5.2 であった。各添加区で、pH に大きな差がみられなかったのは、アミノ酸やペプチドによる緩衝能による影響と考えられた。

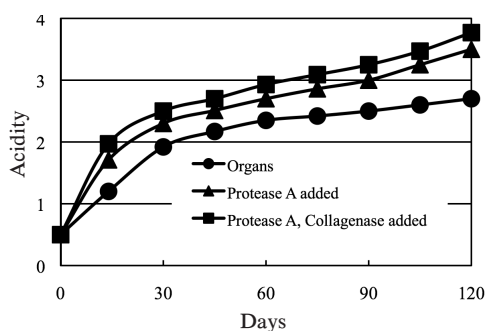


Fig. 2 Changes of acidity during maturation of salmon fish sauce

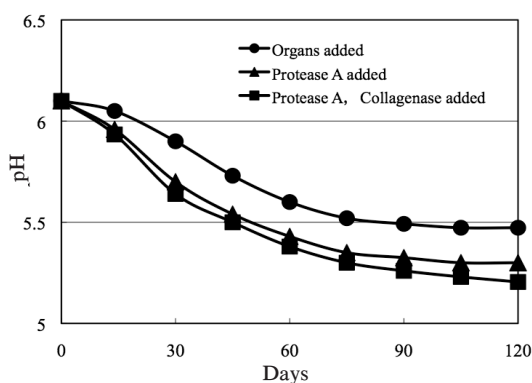


Fig. 3 Changes of pH during maturation of salmon fish sauce

## 3. 全窒素およびホルモール窒素

可溶性画分の全窒素量 (Fig. 4) は、コラーゲナーゼ添加区が最も全窒素量が多く、最もタンパク質の分解が進行していることが推察された。内蔵添加区では120日後、全窒素量は2.1と分解は進んでいたが、その分解率は全タンパク質量の58%であるのに対し、コ

ラーゲナーゼ、プロテアーゼ添加区の分解率はそれぞれ94%、84%と酵素を添加することによりタンパク質の可溶化が進むことが確認された。

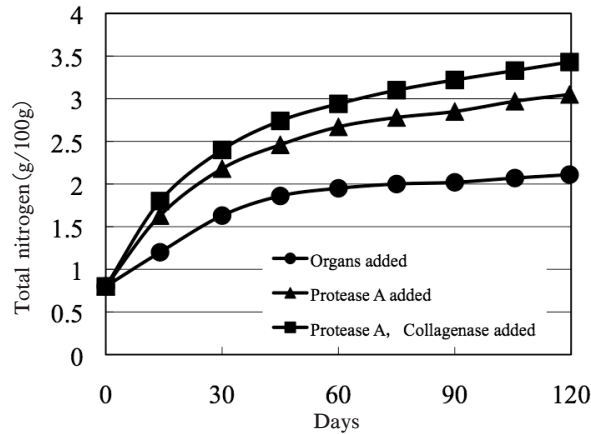


Fig. 4 Change of nitrogen during maturation of salmon fish sauce

さらに窒素成分の分解挙動を調べるため、ホルモール窒素量を測定した結果 (Fig. 5)、全窒素と同様の傾向を示し、コラーゲナーゼ、プロテアーゼ、内蔵添加区の順であり、コラーゲナーゼ添加区は内臓添加区の約1.8倍と内臓添加区に比べ、低分子ペプチドやアミノ酸に分解されていることが推察された。

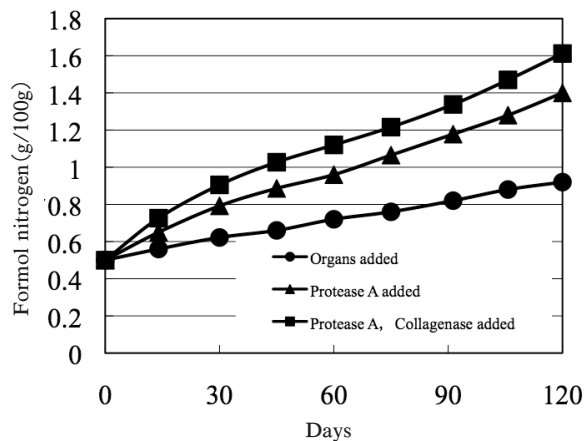


Fig. 5 Change of formol nitrogen during maturation of salmon fish sauce

#### 4. 遊離アミノ酸

Fig. 6 に120日後の遊離アミノ酸の分析結果を示した。遊離アミノ酸量はコラーゲナーゼ添加区が最も多く、次にプロテアーゼ添加、内臓添加区の順であった。内臓添加区と酵素添加区ではアミノ酸組成は異なり、特にプロリン、シスチン、メチオニンは酵素を添加することにより、遊離してくることが確認された。また、グルタミン酸、ヒスチジン、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、リジンも酵素を添加することにより増加し、アミノ酸生成量の差がはっきりみられた。また、コラーゲナーゼを添加することにより、グリシンやプロリンの生成量が増加することも確認された。

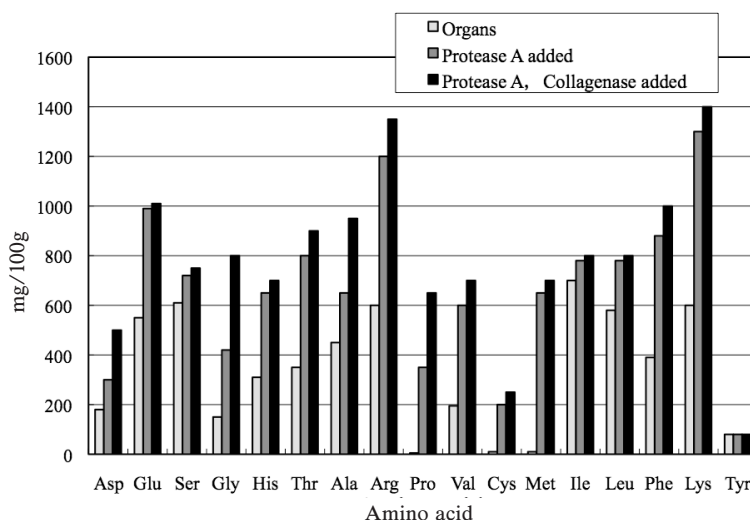


Fig. 6 Free amino acid composition during maturation of salmon fish sauce

### 5. 魚醤油の性状

魚醤油の一般分析の結果は、Table. 2 に示した。pH は酵素製剤を添加した方が若干低く、酸度も酵素製剤添加の方が高かった。この値はいずれも一般に市販されている魚醤油<sup>14)</sup>と同様であった。全窒素量は酵素製剤を添加した魚醤油の方が高く、コラーゲナーゼ添加区が最も分解が高かった。アミノ化率も、コラーゲナーゼ、プロテアーゼ、内蔵添加区の順であり、コラーゲナーゼ添加区はアミノ化率が約69%と最も高く、内蔵添加区に比べ2倍以上であった。プロテアーゼAは耐塩性の酵素であり、プロテアーゼの添加の効果が明らかに認められた。コンウェイの微量拡散法を用いて、揮発性塩基態窒素量を調べた結果、酵素剤を添加することにより内蔵添加区に比べ、揮発性塩基態窒素量は1/2以下に低下した。酵素を添加することにより、揮発性塩基態窒素は分解され、魚醤油の品質が上昇することが示唆された。

短期間で魚醤油を熟成させ、品質のよい製品を製造するためには、耐塩性のプロテアーゼを使用し、さらにコラーゲナーゼを添加することが有効であり、分解の高い製造効率のよい魚醤油ができた。

Table 2 Chemical analysis of salmon fish sauce

	Organs	Protease A added	ProteaseA, Collagenase added
pH	5.5	5.3	5.2
Acidity *	2.7	3.5	3.8
NaCl (g/100g)	25.0	21.5	21.3
Total nitrogen (g/100g)	2.11	3.05	3.40
Amino acid nitrogen (g/100g)	0.66	1.94	2.34
Amino acid (%)	31.3	63.6	68.8
VBN (mg/100g) **	164	62	73

\* Volume (ml) of 0.1N NaOH necessary to the titration of 1ml of sample to pH8.5.

\*\* Volatile base nitrogen.

## 要約

本研究ではブナ化したシロサケの有効利用として、プロテアーゼ製剤、コラーゲナーゼ製剤を用い、良質な魚醤油を開発することを目的とし、魚醤熟成中の成分の経時的变化を調べた。魚醤油の可溶性全窒素量、アミノ化率からプロテアーゼの利用効果が認められ、さらにコラーゲナーゼを添加することにより、より分解の進んだ効率のよい製造法を確立することができた。プロテアーゼ製剤を使用して魚醤油を製造するためには、魚醤油熟成時の pH で活性の高い酵素を用い、かつ耐塩性プロテアーゼの使用によって、よりタンパク質分解速度が大きくなり、効率のよい魚醤油が製造できると推察された。

今後、製造した魚醤油の機能性について調べ、さらに魚醤油を用いた加工食品、料理の利用法について検討する予定である。

## 文献

- 1) 相沢悟、佐々木政則：ブナサケ利用試験、昭和51年度釧路水試事業報告書、146（1977）。
- 2) 一杉哲郎、加藤健二、金子博実、竹谷 弘：ブナサケに関する試験研究。昭和55年度網走水試事業報告書、347（1982）。
- 3) 上村俊一：ブナサケの加工利用について、*New Food Industry*、26、4（1984）。
- 4) 辻浩司、川合祐史：秋サケ筋肉タンパク質の粘性と筋肉のレオロジーに及ぼすブナ化と加熱処理の影響、*北水試研報*、34、21（1990）。
- 5) 羽田野六男：水産シリーズ 秋サケの資源と利用、東京、恒星社厚生閣（1985）。
- 6) Kunitz: Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J. Gen. Physiol*、29、149（1969）。
- 7) 奥山典生、笠井久隆：TNBS法による蛋白質の定量法、蛋白質・核酸・酵素、18、1153（1973）。
- 8) 堤 忠一：食品分析ハンドブック（小原哲二郎監修）、食品成分の分析1.水分、東京、建帛社、p.17（1972）。
- 9) 柳田藤治編著：醸造・食品学実験書、3.3.2タンパク質、東京、食品研究社、p. 226（1985）。
- 10) 堤 忠一：食品分析ハンドブック（小原哲二郎監修）、食品成分の分析 3.B. 脂肪の定量、東京、建帛社、p. 119（1972）。
- 11) 岩尾裕之：食品分析ハンドブック（小原哲二郎監修）、食品成分の分析 5.A. 灰分の定量、東京、建帛社、p. 259（1972）。
- 12) 日本醤油研究所編集：しょうゆ試験法、1.しょうゆ分析法、東京、日本醤油研究所、p.1（1985）。
- 13) 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会編：日本食品標準成分表2010、魚介類しろさけ、p. 176（2010）。
- 14) 太田静行：魚醤油の知識、第3章 魚醤油の成分、東京、幸書房、p.54（1996）。