

「長崎県産魚類を原料とした機能性醗酵食品（さかな味噌）の開発」 （「さかな味噌」の風味改善に関する研究）

| | | | | |
|--------------|--------------|-------|---|------|
| | 食品・環境科 | 科 | 長 | 前田正道 |
| | 研究企画課 | 専門研究員 | | 河村俊哉 |
| 総合水産試験場 | 水産加工開発指導センター | 加工科科长 | | 岡本昭 |
| 環境保健研究センター | 保健科 | 主任研究員 | | 山崎省吾 |
| 環境保健研究センター | 生活化学科 | 研究員 | | 土井康平 |
| 東京海洋大学 | 食品生産科学科 | 教授 | | 大島敏明 |
| 長崎県立大学シーボルト校 | 看護栄養学部 | 教授 | | 田中一成 |

前年度に引き続き、「さかな味噌」の風味の改善を行う目的で「耐塩性酵母」の添加および「耐塩性酵母」によるアルコール発酵を活性化させる目的で「グルコース」の補填を行い、発酵試験を行った。発酵試験はさかな味噌、約600gに耐塩性酵母培養液10mlとグルコースの添加量を10%~20%に変えて4つの試験区を作り、30℃の恒温器に入れて重しを掛け、3ヶ月間発酵・熟成を行った。

その結果、「耐塩性酵母」の「さかな味噌」内での増殖、および、「グルコース」添加によるアルコールの生成量が少なく、味噌特有の香気成分の増加が見られなかったが、無添加時の「さかな味噌」の発酵に比べ、「遊離アミノ酸」の生成量が多く、「旨味」が増していることが分かったのでその結果を報告する。

1. 緒言

昨年度の試験の結果、耐塩性酵母培養液の仕込み時添加では十分なアルコール発酵が起こらず、2ヶ月の発酵・熟成後に耐塩性酵母培養液を添加すると発酵が旺盛になり、有機酸が増加していることが分かった。仕込み時添加がうまくいかなかった原因として耐塩性酵母の培養液の添加量が少なかったこと、また、さかな味噌の食塩濃度が高いため、仕込み時のさかな味噌の対水食塩濃度が高く、酵母が増殖できずにいたことが原因であると思われた。

そこで今回は、十分な量の耐塩性酵母培養液を添加することに加え、補充糖分としてグルコースを10%ないし20%加えることで発酵を促進させることが出来るのではないかと判断して培養液とグルコース添加量を変えた4つの試験区を設定して「さかな味噌」の仕込みを行い、30℃の恒温器の中に3ヶ月保存して発酵状態を観察した。

2. 実験方法

2.1 耐塩性酵母の培養

耐塩性酵母の培養液の調製は次のように行った。種菌を樋口もやし店から購入し、以下の割合で培養液を調製して拡大培養した。

①培地（ダイヤデンイースト）37.2g

②食塩 100g

③生醤油 50ml

以上の材料を水に溶かして1Lにする。pHを6.0に調製した培地を250mlずつに1Lの三角フラスコ4個に分取し、オートクレーブで滅菌処理を行った。

各フラスコは放置冷却後、斜面培養された種菌から、1白金耳をそれぞれのフラスコに添加、混合して30℃で7日間、静置培養した。

2.2 試験用仕込み味噌の調製

エソの冷凍すり身（グルコース8%含有）を解凍し、蒸気で蒸し、5kgを採取した。これに「合わせ麴」（米6:麦4）5kgと「食塩」を4kg添加、混合して「仕込み味噌」を調製した。「仕込み味噌」14kgの中から6kgを分取し、これを約500gないし600gずつに小分けして、播り鉢容器に取り、培養しておいた耐塩性酵母（サッカロミセス・ルーキシー）の培養液とグルコースの所定量を添加、混合して以下のよ
うな4つの試験区を調製した。

○糖添加試験区の設定条件

試験区 ①：グルコース 10% + 混合した酵母培養液 10 ml (1 × 10⁸ c.f.u)

試験区 ②：グルコース 20% + 混合した酵母培養液 10 ml (同上)

試験区 ③：グルコース 0% + 混合した酵母培養液 10 ml (同上)

試験区 ④：グルコース 0% + 酵母培養液 0 ml

2.3 発酵条件と測定項目

4つの試験区はそれぞれ、サランラップで覆い、味噌に対して1.2倍の約600gないし700gの重しをのせて30℃のインキュベーターに3ヶ月保存した。

サンプリングは1ヶ月毎に3回行った。採取したサンプルについてpH、塩分、全窒素、ホルモル態窒素、タンパク分解率、糖組成、遊離アミノ酸組成などを測定した。

3. 実験結果

3.1 仕込み時「さかな味噌」の栄養成分

「仕込み味噌」の性状を知るために仕込み時の「さかな味噌」の栄養成分を測定した。その結果、食塩の濃度が計算上は16.7%なのに実測では10.1%と少なかった。また、水分は40%、タンパク質は14.9%であった。

表1 仕込み味噌（さかな味噌）の性状

| 項目 | % | 備考 |
|------------|------|--------------|
| 水分 | 40.7 | |
| 灰分 | 10.9 | |
| 塩分 | 10.1 | |
| 全窒素分 (T-N) | 2.6 | |
| 粗タンパク質 | 14.9 | (タンパク係数：5.7) |

3.2 仕込み1ヶ月後の「さかな味噌」

仕込み後1ヶ月を経過した「さかな味噌」から一部を分取し、「さかな味噌」の性状について「pH」、「水

分%」、「塩分%」、「ホルモル態窒素 (H-N%)」、「全窒素 (T-N%)」、「タンパク分解率%」を測定した。

表2 1ヶ月熟成後の「さかな味噌」の性状

| 区分 | pH | 水分% | 塩分% | H-N% | T-N% | タンパク分解率% |
|----|------|------|------|------|------|----------|
| ① | 5.12 | 44.1 | 13.1 | 0.22 | 2.13 | 10.45 |
| ② | 5.15 | 42.6 | 12.8 | 0.26 | 1.98 | 13.11 |
| ③ | 5.21 | 39.8 | 11.5 | 0.31 | 2.44 | 12.78 |
| ④ | 5.12 | 44.3 | 14.8 | 0.31 | 2.50 | 12.05 |

1ヶ月発酵後のさかな味噌はpHが5.1から5.2を示した。水分は若干増えて40%から平均42.7%になった。塩分も増加し、12.4%から平均13.1%を示した。タンパク分解率は10.5%から13.1%を示し、平均で12.1%であった。

特にタンパク分解率は前年度の1ヶ月熟成後のさかな味噌のタンパク分解率が10%以下であったのに対し、今回はすべての試験区で10%以上を示したことが特徴的である。

3.3 仕込み後2ヶ月経過した「さかな味噌」の性状

仕込み後2ヶ月を経過した「さかな味噌」の一部を採取し、1ヶ月経過後と同様の項目について測定し、

「2ヶ月発酵・熟成したさかな味噌」の性状を調べた。その結果を表3に示した。

表3 2ヶ月熟成後の「さかな味噌」の性状

| 区分 | pH | 水分% | 塩分% | H-N% | T-N% | タンパク分解率% |
|----|------|------|------|------|-------|----------|
| ① | 5.02 | 43.8 | 12.9 | 0.27 | 1.970 | 13.7 |
| ② | 5.00 | 38.3 | 11.5 | 0.22 | 1.760 | 12.5 |
| ③ | 5.05 | 41.2 | 13.2 | 0.34 | 2.774 | 12.3 |
| ④ | 5.03 | 43.4 | 14.4 | 0.33 | 2.448 | 13.5 |

2ヶ月発酵させた「さかな味噌」はpHが5.0付近になり、塩分は1ヶ月前の前回と変わらず13.0%、水分は1ヶ月前の較べ、若干、減少し、41.7%を示した。

ホルモル態窒素分は平均0.29%と少なく、全窒素分は平均で2.153%、タンパク分解率は1ヶ月

後の平均12.1%から平均13.0%へと0.9%ほどやや増加した。

3.4 仕込み後3ヶ月経過した「さかな味噌」の性状

仕込み後3ヶ月熟成させた「さかな味噌」の一部を分取し、その性状を調べた。

表4 3ヶ月熟成後の「さかな味噌」の性状

| 区分 | pH | 水分% | 塩分% | H-N% | T-N% | タンパク分解率% |
|----|------|------|------|------|-------|----------|
| ① | 5.00 | 38.2 | 13.0 | 0.31 | 2.239 | 13.9 |
| ② | 4.95 | 34.8 | 11.7 | 0.21 | 2.044 | 10.5 |
| ③ | 5.03 | 38.7 | 15.6 | 0.33 | 2.532 | 13.1 |
| ④ | 5.10 | 40.8 | 13.2 | 0.34 | 2.575 | 13.0 |

その結果、pHはほとんど変わらなかったが、水分は38.0%と2ヶ月後に較べ、約2%近く減少し、全窒素分は平均2.348%と増加したがホルモル態窒素分が平均0.30%と前回とほとんど変わっ

ていないため、相対的にタンパク分解率の平均が12.6%とやや減少した。ホルモル態窒素分の増加が見られないため、タンパク質の酵素分解は限界に近いと思われた。

3.5 発酵・熟成したさかな味噌の糖組成

耐塩性酵母の増殖により、3ヶ月熟成後の「さかな味噌」について残糖分が減少していることが推定され

たのでさかな味噌の糖分をHPLC法で測定した。その結果を表5に示す。

表5 さかな味噌の糖分

| 区分 | スクロース (%) | グルコース (%) | 合計 (%) |
|----|-----------|-----------|--------|
| ① | 2.9 | 19.7 | 22.6 |
| ② | 4.3 | 21.3 | 25.6 |
| ③ | 2.4 | 19.2 | 21.6 |
| ④ | 2.2 | 15.6 | 17.8 |

その結果、「さかな味噌」では耐塩性酵母の添加効果が見られなかった。スクロースは平均で2.9%、グルコースでは平均19.0%と試験区毎に糖の添加量の違いがそのまま結果に現れた。特に試験区②につ

いてはスクロースの分解もそれほど起こっていないように思われた。グルコースを添加した試験区だけで見ると残りの全糖量が平均23.3%を示し、無添加区に較べると4.5%ほど多かった。

3.6 「さかな味噌」の遊離アミノ酸

糖分および酵母培養液を加えて発酵熟成させた2ヶ

月後の「さかな味噌」の遊離アミノ酸を測定した。その結果を表6に示す。

表6 「さかな味噌(エソ)」2ヶ月熟成後の遊離アミノ酸

| 試験区分 アミノ酸名 | 2ヶ月後 | | | |
|---------------|------|------|------|------|
| | 試験区① | 試験区② | 試験③ | 試験④ |
| アスパラギン酸 | 190 | 232 | 232 | 208 |
| スレオニン | 61 | 75 | 83 | 76 |
| セリン | 78 | 95 | 104 | 93 |
| グルタミン酸 | 307 | 374 | 392 | 369 |
| プロリン | 66 | 81 | 80 | 73 |
| グリシン | 42 | 50 | 54 | 46 |
| アラニン | 192 | 235 | 239 | 222 |
| シスチン | 0 | 0 | 0 | 0 |
| バリン | 80 | 98 | 112 | 97 |
| メチオニン | 34 | 41 | 49 | 25 |
| イソロイシン | 80 | 98 | 108 | 99 |
| ロイシン | 154 | 187 | 213 | 185 |
| チロシン | 56 | 6 | 76 | 64 |
| フェニルアラニン | 29 | 35 | 44 | 35 |
| ヒスチジン | 32 | 39 | 44 | 43 |
| リジン | 181 | 221 | 247 | 225 |
| アンモニア | 0 | 0 | 0 | 0 |
| アルギニン | 104 | 127 | 141 | 128 |
| タウリン | 187 | 228 | 210 | 210 |
| 合計 | 1892 | 2308 | 2448 | 2223 |

2ヶ月後のさかな味噌の遊離アミノ酸の分析の結果、平均で2218mg/100gあった。中でも試験区③の

アミノ酸が最も多く、次いで試験区②が多かったが、試験区①は無添加区よりも331mgほど少なかった。

3.7 3ヶ月後のさかな味噌のアミノ酸

耐塩性酵母培養液およびグルコースを添加して発酵・熟成させた3ヶ月後のさかな味噌の遊離アミノ酸を測定した。その結果を表7に示す。

3ヶ月熟成後の「さかな味噌」では全体的に平均アミノ酸量が4905mgと2ヶ月熟成味噌の2218mgに比べ、約2倍ほど増加した。特に試験区③と④の遊離アミノ酸がかなり多く増えていたのに対し、試験区②はそれほど増加は目立たなかった。また、試験区③ではアスパラギン酸、アラニン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン等の顕著な増加が見られた。前年度のエソの「さかな味噌」の遊離アミノ酸が3100mg/100gであったのに較べると酵素分解が進み、全体的に遊離アミノ酸が大きく増加していることが分かった。

4. 考 察

4.1 仕込み時に耐塩性酵母培養液を10mlほど添加したが発酵期間中、十分な増殖が起こらず、風味の改善が出来なかった。この原因として「さかな味噌」の「耐水食塩濃度」が高いことが上げられる。そのため、「さかな味噌」の発酵・熟成中に耐塩性酵母が増殖できずに死滅したものと思われた。

4.2 タンパク分解率では合わせ麹による「さかな味噌」の発酵は最低でも2ヶ月が必要であり、3ヶ月以上ではそれ以上のタンパク分解率の上昇は期待できなかった。しかし、遊離アミノ酸の増加が見られ、補糖により、耐塩性酵母の添加効果はあるものと思われた。

表7 「さかな味噌（エソ）」3ヶ月熟成後の遊離アミノ酸

| 試験区分 | さかな味噌3ヶ月熟成後 | | | |
|----------|-------------|-------|-------|-------|
| | 試験区 ① | 試験区 ② | 試験区 ③ | 試験区 ④ |
| アスパラギン酸 | 724 | 501 | 1495 | 755 |
| スレオニン | 158 | 98 | 240 | 178 |
| セリン | 174 | 116 | 271 | 194 |
| グルタミン酸 | 859 | 608 | 428 | 896 |
| プロリン | 297 | 221 | 317 | 517 |
| グリシン | 86 | 68 | 134 | 95 |
| アラニン | 441 | 306 | 732 | 485 |
| シスチン | — | — | 51 | — |
| バリン | 179 | 114 | 274 | 207 |
| メチオニン | 369 | — | — | 329 |
| イロイソ | 123 | 168 | 219 | 120 |
| ロイシン | 335 | 310 | 755 | 412 |
| チロシン | 148 | 98 | 213 | 161 |
| フェニルアラニン | 124 | — | 205 | 122 |
| ヒスチジン | 134 | — | 353 | 265 |
| リジン | 265 | 153 | 325 | 283 |
| アンモニア | 124 | 89 | 168 | 116 |
| アルギニン | 136 | 954 | 493 | 154 |
| タウリン | 120 | 84 | 123 | 213 |
| β-アラニン | 36 | 27 | 50 | 37 |
| 合計 | 4552 | 3715 | 6180 | 5173 |

4.3 今後の対策としては「食塩濃度」を減らすこと（10：10：2）や「麴歩合」を増やすこと（現在は10部、これを20部にする）により、タンパク分解率が向上し、麴の甘味が増し、アミノ酸の増加も見込まれ、おいしい「さかな味噌」が得られるものと思われる。

5. 結 言

さかな味噌の風味の改善を目指して耐塩性酵母の添加を行ったが原料配合の際すなわち、仕込み時添加ではさかな味噌の食塩濃度が高く、耐塩性酵母の増殖が見られなかった。そのため、アルコールの生成が進ま

ず、有機酸とのエステル化による芳香族化合物の生成が出来なかった。しかし、酵素分解が進み、遊離アミノ酸が増加したのは良好な効果だと思われた。

前回の試験では発酵熟成後に耐塩性酵母の添加による有機酸の増加が見られたので今後は仕込み時ではなく、1ヶ月発酵・熟成後に培養液を添加し、発酵・熟成する方法を用いることにより、さかな味噌の一層の風味の改善を目指して試験を行う予定である。

参考文献

原田恭行、他3名：混獲雑魚の食品素材化技術の開発、平成17年度富山県食加研報告書