

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K02406

研究課題名(和文) 加圧二酸化炭素環境下での減塩高品質魚醤の調製

研究課題名(英文) Preparation of salt-reduced fish sauce under pressurized carbon dioxide

研究代表者

野間 誠司(Noma, Seiji)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：40392071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、加圧CO<sub>2</sub>下で高品質イワシ減塩魚醤を作製可能であることを確認した。本研究ではまず、加圧CO<sub>2</sub>下では魚醤の発酵開始初期に乳酸、NaCl、加圧CO<sub>2</sub>が同時に存在することで高い殺菌効果が得られ、魚醤の腐敗を抑制していることを明らかにした。また、4種類の魚それぞれ単独およびその混合物についても、イワシ同様に減塩、腐敗の抑制、遊離アミノ酸含量増加等の品質向上が生じ、品質向上には一定の普遍性が認められた。また、これらの風味が類似することが分かった。魚醤作製を45℃で行った結果、7%への減塩、製造期間の短縮が可能であった。一方、作製した魚醤を加熱処理しても顕著な品質変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CO<sub>2</sub>を液体食品に加圧溶解すると(加圧CO<sub>2</sub>処理)、その間のみ一時的に酸性・嫌気環境が生じる。この環境下では多くの微生物の増殖を抑制できる。申請者は本作用を魚醤の調製に応用し、高品質減塩魚醤を作製できた。本研究では、高品質化が原料に依らず起こること、その機構の一端、そして、加圧CO<sub>2</sub>魚醤の風味が類似化することを明らかにした。また、実用化に向けて、高温・短期間で作製する方法や、作製後の保存性等についても明らかにできた。これらの成果は今後、魚醤をより健康志向に合致し、品質の高い調味料に昇華できる可能性を高めるものである。

研究成果の概要(英文)：We have confirmed that high-quality sardine salt-reduced fish sauce was produced under pressurized CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) conditions. In this study, we found that the lactic acid and NaCl present at the beginning of pCO<sub>2</sub> fermentation contributed to inhibiting the spoilage of the fish sauce. In addition, fish sauces produced from four species of fish alone and their mixtures also had improved quality and similar flavors. The pCO<sub>2</sub> fish sauce was produced at an elevated temperature (45 °C), which enabled a reduction in NaCl content to 7% and a reduction in the production period. On the other hand, the quality of pCO<sub>2</sub> fish sauces was unchanged after heat treatment.

研究分野：生物資源利用学

キーワード：魚醤 二酸化炭素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

酸性化は食品の品質安定性や加工工程において多くの利点を生じる。pH 4 以下では、殺菌や酵素失活が容易になる。また、中性とは異なる抽出や加工特性が得られる。しかし、酸を添加すればその除去や中和にコストと手間が生じる。したがって、酸性化の利点を簡便に活用するには斬新な発想が必要となる。

CO<sub>2</sub> を液体食品に加圧溶解すると、処理中の食品を酸性 pH に制御できる (Meysami et al., 1992)。しかもこの pH 低下は、圧力の解放によって容易に解除できるため、CO<sub>2</sub> の加圧溶解により、酸の除去や中和を必要とせず「一時的な酸性化」が可能である。これまでに、加圧CO<sub>2</sub>(pCO<sub>2</sub>)処理の酸性化作用に基づく微生物制御効果を実証している。

魚醤は、魚介類を大量の塩に漬けて室温に放置し、内在性の酵素で自己分解させて調製する液体調味料である。醤油の2倍以上のアミノ酸を含み、濃厚なうま味を呈する点で非常に魅力的であり、東南アジアを中心に世界中で製造、消費されている。しかし日本では、塩含量の多さ(製品の終濃度は20%以上)や、独特の臭みが一般消費者への訴求を低下させている。そこで、成果を蓄積してきたpCO<sub>2</sub>の微生物制御作用を魚醤の減塩に活用するべく、pCO<sub>2</sub>下(1-5 MPa, 30℃, NaCl 10%)でイワシ魚醤を調製し、従来法(大気圧下, 30℃, NaCl 20%)と比較した。その結果、塩濃度を半減しても、腐敗のない魚醤を調製できた。しかも興味深いことに、栄養成分や官能的にも優れる等、品質が劇的に向上していた(Noma et al., 2020)。さらに、ワラスボ(ハゼ科)を原料とした場合も類似の高品質な減塩魚醤を調製できた(古川ら, 2021)。

分類上近縁でない2種の魚について、pCO<sub>2</sub>下において顕著な減塩と高品質化が認められた。この結果は、pCO<sub>2</sub>の効果が魚種に依存せず普遍的である可能性を期待させる。これを確実する方法を確立できれば、水産資源が乏少化する中、漁獲量の3割は廃棄されている未利用魚や損傷魚、雑魚の有効利用法になり得る。本研究では、pCO<sub>2</sub>下での高品質減塩魚醤の調製法を確立するための検討を行った。

## 2. 研究の目的

具体的には以下の4点について研究した。

品質向上の普遍性、すなわち他の魚類にも適用可能かの実証

品質向上(高い微生物制御性)の機構の検討

品質評価

魚醤調製期間の短縮

## 3. 研究の方法

### (1) 原料の調製

においてはイワシ、ワラスボ、アジ、コノシロをストマッカーにより粉碎し、それぞれの魚を単独、および4種類の同量混合物を、  
においては内臓、頭部、尾部を除去したイワシを原料として原料として大気圧下(従来法)、pCO<sub>2</sub>下で魚醤を作製した。pCO<sub>2</sub>処理は、容量500 mLの耐圧容器内で行った。

作製後、水切りネットで粗る過後、遠心分離した。この上清を魚醤サンプルとし、各種分析に使用した。アミン類と有機酸分析、遊離アミノ酸分析には、さらに脱脂、除タンパク質を行った魚醤を使用した。

### (2) 遊離アミノ酸の測定、有機酸の測定、アミン類含量の測定、中温細菌数測定

既報(Noma et al., 2020)にしたがって行った。

### (3) GC-MS分析

魚醤中の揮発性化合物は固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラフィー質量分析(SPME GC-MS)により行った(Tagawa et al., 2023)。

### (4) 官能評価

既報(金出ら, 印刷中; Tagawa et al., 2023)にしたがって行った。

(5) 味分析装置 TS-5000Z system (Intelligent Sensor Technology, Inc., Kanagawa, Japan) により行った。

## 4. 研究成果

品質向上の普遍性 (Tagawa et al., 2023)

これまでイワシやワラスボを原料とした場合に pCO<sub>2</sub> 魚醤が大気圧魚醤よりも高い品質を示すことを明らかにしてきた。ここでは、イワシとワラスボに加え、アジ、コノシロ、これら4種類の魚の混合物を原料として pCO<sub>2</sub> 魚醤と大気圧魚醤を作製し、それぞれの特性を評価した。pCO<sub>2</sub> 魚醤は 5 MPa、NaCl 終濃度 10%、大気圧魚醤は大気圧下、10-20%とし、2ヶ月

間、30 で発酵させた。大気圧魚醤は NaCl 濃度 20%未満では腐敗したため、pCO<sub>2</sub> 魚醤との品質比較は、NaCl 20%について行った。

大気圧魚醤では使用した原料によって 10<sup>6</sup> CFU/mL を超える中温細菌が検出される場合があったが、pCO<sub>2</sub> 魚醤ではいずれも非検出であった。pCO<sub>2</sub> 魚醤は大気圧魚醤と比較して、いずれの魚、混合物を原料とした場合でも色が薄くなり、発酵中のアミノ・カルボニル反応の抑制が推察された。また、遊離アミノ酸量が 1.3-2.2 倍に増加した。さらに、魚醤特有の臭いがマイルドになり、SPME GC-MS 分析から、pCO<sub>2</sub> 魚醤では原料が異なっても含有する揮発性成分の共通性が高いことが判明した。興味深いことに、味覚センサー分析の結果を主成分分析した結果、大気圧魚醤の味は使用する原料によってばらつき、原料の特性が出た一方で、pCO<sub>2</sub> 魚醤では似た味であることが判明した。

以上の結果より、pCO<sub>2</sub> 下では魚種に関係なく品質を向上すること、pCO<sub>2</sub> 魚醤の風味は原料に依存せず類似することが明らかになった。

#### 品質向上の機構の検討 (大久保ら, 2022)

過去の我々の研究および において、pCO<sub>2</sub> 魚醤では中温細菌が非検出であった。pCO<sub>2</sub> や各種有機酸が殺菌・静菌効果を有していることは周知の事実であるが、pCO<sub>2</sub> 魚醤からは乳酸や酢酸等の有機酸も検出された。そこで、pCO<sub>2</sub> 魚醤では中温細菌が非検出であった理由を明らかにするために pCO<sub>2</sub> 処理と乳酸、酢酸、NaCl の併用殺菌効果を検証した。試験には *Escherichia coli* と *Staphylococcus aureus* を使用した。酢酸、乳酸の濃度は pCO<sub>2</sub> 魚醤中の濃度を参考にしてそれぞれ 0.005~0.1%、0.1~0.5% に設定し、NaCl は 7% とした。pCO<sub>2</sub> 処理条件は 37 、1 MPa、30 分とした。

作製済みの魚醤中に *E. coli* と *S. aureus* を接種し、pCO<sub>2</sub> 処理を行っても殺菌効果は 1 log<sub>10</sub> CFU/mL 未満にとどまったため、pCO<sub>2</sub> 魚醤における殺菌は魚醤製造開始直後に生じていると推察された。そこで、7% NaCl と 0.005% 酢酸の混合水溶液中に *E. coli* と *S. aureus* を懸濁した結果、*E. coli* と *S. aureus* の両方で約 1 log<sub>10</sub> CFU/mL の殺菌効果であったが、NaCl と 0.15% 乳酸の併用は *E. coli* と *S. aureus* でそれぞれ約 6 log<sub>10</sub> CFU/mL と 5 log<sub>10</sub> CFU/mL の殺菌効果を生じた。さらに、NaCl、pCO<sub>2</sub>、および 2 種類の有機酸併用の場合、いずれの細菌に対しても約 7 log<sub>10</sub> CFU/mL の殺菌効果が得られた。この併用処理は *E. coli* と *S. aureus* 細胞の Propidium Iodide 染色性を増加させたが、UV 吸収物質の漏出は見られなかった。

以上の結果より、pCO<sub>2</sub> 下での魚醤の製造開始時に、乳酸、NaCl、pCO<sub>2</sub> が複合的に作用することで細菌が生理的に損傷し、死滅していると推察された。

#### 品質評価 (金出ら, 印刷中)

pCO<sub>2</sub> 魚醤の品質を既に上市されている魚醤と比較した。具体的には、100 で 10 分間加熱した pCO<sub>2</sub> 魚醤 (NaCl 終濃度 10%、CO<sub>2</sub> 圧力 3 MPa、30 で約 6 ヶ月間発酵) の品質をよしる、ナンプラー、ニョクマムと比較した。pCO<sub>2</sub> 魚醤において、中温細菌は検出されず、腐敗性アミン類の含有量も減少していた。遊離アミノ酸組成を主成分分析した結果、pCO<sub>2</sub> 魚醤とよしるは類似しているが、ナンプラーとニョクマムとは異なることが分かった。また、官能検査の結果、ナンプラーやニョクマムよりも魚臭さが低減していた一方で、出汁様のかおりが増強されていた。官能試験によるおのの総合評価も pCO<sub>2</sub> 魚醤で高かった。したがって、pCO<sub>2</sub> 魚醤は市販魚醤と遜色ない品質を有し、好ましいにおい質を有する魚醤であることが示された。

#### 魚醤調製期間の短縮 (Okubo et al., 2022)

pCO<sub>2</sub> 魚醤の作製期間を短縮するために、pCO<sub>2</sub> に穏和な加熱、酸性プロテアーゼ (1%) のを併用した。発酵期間を 1 週間とした場合、最適な発酵温度は 45 、NaCl 濃度は 7% と決定した。45 、酸性プロテアーゼ (ORYENTASE AY) を併用した pCO<sub>2</sub> (1 MPa) 下で魚醤を作製した結果、細菌の増殖は認められず、腐敗性アミン類の含有量が減少し、遊離アミノ酸含有量が増加し、うま味が向上した。また、大気圧魚醤と比較して褐変が抑制された。これらの結果から、pCO<sub>2</sub> と穏和な加熱と酸性プロテアーゼの併用により、短い発酵期間で減塩魚醤の製造が可能となった。

#### < 引用文献 >

Meysami B., Balaban MO., and Texeira AA. 1992. Prediction of pH in model systems pressurized with CO<sub>2</sub>. *Biotechnology Progress* 8: 149-54. <https://doi.org/10.1021/bp00014a009>

Noma S., Koyanagi L., Kawano S., Hayashi N. 2020. Application of pressurized carbon dioxide during salt-reduced sardine fish sauce production. *Food Science and Technology Research* 26: 195-204.

古川稔之, 野間誠司, 出村幹英, 林 信行. 2021. 加圧二酸化炭素を利用した減塩ワラスボ

- 魚醬の作製. *日本食品保蔵科学会誌* 47: 185-193.
- Tagawa J, Noma S., Demura M., Hayashi N. 2023. Comparison of reduced-salt fish sauces produced under pressurized carbon dioxide treatment from *Sardinops melanostictus*, *Trachurus japonicus*, *Konosirus punctatus*, *Odontamblyopus lacepedii*, and their mixture. *Food and Bioprocess Technology* 16: 434-446.
- 金出愛生, 野間誠司, 出村幹英, 林信行. 加圧二酸化炭素下で作製した減塩魚醬と市販魚醬との比較 *日本食品保蔵科学会誌* 印刷中
- 大久保亜央己, 國吉南帆, 野間誠司, 出村幹英, 林 信行. 2022. 加圧 CO<sub>2</sub> 下での魚醬作製における細菌の制御. *日本食品保蔵科学会誌* 48: 157-164.
- Okubo A., Noma S., Demura M., Hayashi N. 2022. Accelerated production of reduced-salt sardine fish sauce under pressurized carbon dioxide, combining mild heating and proteolysis. *Food Science and Technology Research* 28: 235-244.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 古川稔之・野間誠司・出村幹英・林 信行	4. 巻 47(4)
2. 論文標題 加圧二酸化炭素を利用した減塩ワラスボ魚醬の作製	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本食品保蔵科学会誌	6. 最初と最後の頁 185-193
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金出 愛生、小柳 理紗、野間 誠司、出村 幹英、林 信行
2. 発表標題 加圧二酸化炭素下での自己分解を利用した減塩イワシ魚醬の製造
3. 学会等名 日本食品科学工学会第68 回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田川 丈真、野間 誠司、出村 幹英、林 信行
2. 発表標題 複数魚種を原料とした加圧CO2下での減塩魚醬の製造
3. 学会等名 日本食品科学工学会第68 回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加圧CO2を用いた減塩速醸イワシ魚醬の作製
2. 発表標題 大久保亜央己、野間誠司、出村幹英、林信行
3. 学会等名 日本農芸化学会西日本・中四国・関西支部 2021年度合同鹿児島大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古川稔之、小柳理紗、大久保亜央己、野間誠司、出村幹英、林 信行
2. 発表標題 加圧CO2を利用したワラスボ魚醬製造に関する研究
3. 学会等名 令和2年度（公社）日本食品科学工学会 西日本支部大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関