

日田市特産の鮎を原料とした新規魚醤油の開発に関する研究

山本展久*・水江智子*・佐野一成*・原 正幸**

*食品工業部・**合名会社まるはら

The Development of a New-Type of Fishsauce Using AYU , Sweetfish (*Plecoglossus altivelis*), the most Prevalent Freshwater-Fish in the Hita Area

Nobuhisa YAMAMOTO*・Satoko MIZUE*・Kazunari SANÔ*

Masayuki HARA **

*Food Science and Technology Division・**Maruhara & Co.

要 旨

酵素利用技術の応用研究の一環として日田市特産鮎を原料とした新規魚醤油の開発を行った。本研究は合名会社まるはらとの共同で行った。酵素の選定を行ったところ、検討した酵素の中である種の蛋白質分解酵素で特徴的に旨味成分であるアミノ酸の蓄積が見られ、分解効率も非常に良かった。魚醤油の清澄度も高く、さらに魚醤油層と未分解物層との界面も非常にクリアーなものであった。このことは分解物の粘度が低いことが要因となっており、濾過工程等の処理を考えると非常にハンドリングしやすい諸味となっていた。以上の点を総合して本酵素を鮎魚醤油製造用酵素とした。また、魚醤油製造で問題となっていた油分分離技術も確立した。以上の技術で製造した鮎魚醤油は、旨味も高く、従来の魚醤油で敬遠される原因であった臭み成分もほとんどなく、非常に高品質なものであった。本技術については特許を出願中であり、開発製品については商品名『鮎魚醬』として上市を予定している。

1. 緒 言

醤油の起源について定説はないが、醬（ひしお）がその原形で、中国から日本に伝わったというのが有力である⁽¹⁾。一般に醬とは固形物と液体が混ざった状態を指し、油とは上に浮かぶものであることから醬を濾して液体だけにしたものが醤油であると考えられる。以下に記述する醬は原料が何であれ、蛋白質を分解酵素によってアミノ酸にまで分解して得られる旨味調味料である。

約 3000 年前の周王朝初期の記録である『周礼（しゅうらい）』には醢（かい）の記述がある⁽²⁾。醢とは魚鳥獣の乾し肉を粟麴と塩と酒に漬けて醗酵させた肉醬（ししびしお）であった。この頃は蛋白質を麴菌由来の酵素で分解して作っていたものであり、内臓と共に肉を漬けて込んで内臓由来の酵素で分解するタイプの肉醬は漢代になってからである。いずれのしても周の時代から魚などを原料として調味料を得ていたことになる。

やがて肉醬の需要が増えて供給ができなくなると、農業の発達に伴い穀類を利用した穀醬（こくびしお）が考案された。後の漢代になり、『齊民要術』には大豆にカビつけした豉の記述が現れ、醬や豉を煮出した豉汁（くきじる）という今の醤油の先祖のようなものが使われる

ようになった。

これら醬や豉の日本への伝来の時期は明らかではないが、『大宝律令』（701年）によると宮内省の大膳職に属する醬院（ひしおのつかさ）で大豆を原料とする各種の醬や豉が作られていた。醬は当時の塩蔵品の総称で、草醬（くさびしお）は今の漬物、肉醬は塩辛類、穀醬が醤油のようだともいわれている。もちろん伝播は中国からと考えられ、日本でも穀醬や魚醬を含む肉醬が使用されていた。しかし、食肉禁止などの食生活環境の変化により穀醬のみが一般化し魚醬は衰退していった。

現在では魚醤油（ぎょしょうゆ）はタイやベトナムを中心に中国南部や東南アジア一帯で広く用いられており、ベトナムの「ニョクナム」やタイの「ナンプラー」として知られている。ヨーロッパでも「アンチョビソース」として存在する。穀醬におされて衰退していった日本では、一部で「しょつる」（秋田）、「いしる・いしり」（石川）、「いかなご醤油」（香川）、「こうなご醤油」（千葉）などがそれぞれの地域の郷土料理の特徴的風味付けに欠かせないものとして残っているにすぎない。しかし、魚醤油の持つ品質や伝統的食文化の再評価により、

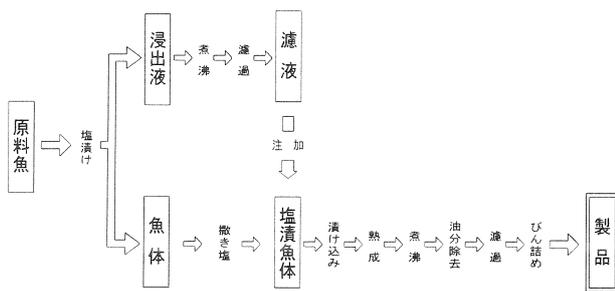


Fig.1 一般的な魚醤油の製造方法

また近年、化学調味料の弊害が指摘されたことによる消費者の化学調味料離れや天然物志向に後押しされ、魚醤油が見直されつつある。

魚醤油の製造方法は地域により異なるが、代表的な製造方法を Fig.1⁽³⁾に示す。仕込み容器に原材料となる海産の小型魚類を塩などと共に堆積させ、腐敗防止のために表面を塩で覆い、重石をのせて数年間分解熟成させる。原材料の魚類としては、東南アジアではカタクチイワシ、ニシン、小エビなど、日本ではイワシ、ハタハタ、イカなどがあげられる。できた製品には独特の香りがあり、多くの消費者は「生臭い」臭気として感じるため、魚醤油は複雑で奥深い濃厚な旨味を呈する調味料であるにもかかわらず、残念ながら一部の愛好家を中心とした消費でしかない。その臭みは魚醤油独特の特徴として捕らえられ、いわゆる“通好み”の味であり、なかなか日本人には馴染めない調味料であった。

従来、魚醤油の製造には上述のように海産魚介類を用いてきたため、魚体の生臭さが魚醤油中に移行してしまい、魚醤油独特な臭みが製品に残っていた。これまでイオン交換を使って臭みを取り除く方法、醤油油などの香気物質を添加する方法、通常の大豆醤油用の麴や諸味を加える方法、臭気の原因と思われる内臓を除去して仕込む方法などが考案されている。しかし、現在製品として市場に出回っている製品はどれもかなりの臭みを伴うものであり、日本人にはなかなか馴染めないものである。

また、魚自体の内臓に含まれる蛋白質分解酵素を利用して魚の蛋白質を分解して旨味成分であるアミノ酸を作り出すため、製造には1年から数年というかなりの長期間を要するものである。この点は蛋白質分解酵素を別途添加することで製造コストはかかるものの製造期間を短縮できることが知られている。しかし、蛋白質分解酵素には数多くの種類があるため使用する酵素と魚の種類によって組み合わせは非常に多岐にわたる。

日田市では鮎の養殖・加工利用が盛んであり、特に5月の鮎漁解禁にあわせて三隈川の川岸では鮎料理店が特

設され、鮎は観光資源としても貴重な存在となっている。当センターでは、合名会社まるはらから日田市特産の鮎を利用して魚醤油を開発したいとの技術相談を受けた。今回の製品開発では、できるだけ短期間で、しかも臭みの少ない食べやすいものとの要望であった。

また、鮎は日田市で特産品となっている一方、加工製品や土産物（塩焼き、甘露煮など）には不向きな規格外品が大量に発生してしまい、産業廃棄物として大きな問題になっていた。今回の製品化には産業廃棄物の有効利用という別の意図がある。

開発の目的としては、第1に鮎を原料とした魚醤油を開発すること、第2に臭みを抑えた魚醤油を開発すること、の2点がポイントである。鮎という一般的に高級魚とされる魚を原料とし、臭み・生臭みを極力抑えた魚醤油を開発することで、従来の魚醤油のイメージを払拭し、新しい調味料開発に挑戦する。

2. 実験方法

2.1 鮎を用いた魚醤油の仕込み試験

鮎を水洗し体表に付着した粘着成分（ぬめり）を取った後、魚体全部（頭、胴、内臓）をミンチ状にすりつぶした。この鮎ミンチ 85 に塩 15 を添加し、全量を 100 とした。この混合物をよく攪拌し、塩をミンチに充分なじませた。この状態での塩分濃度は 15% であり、鮎の水分を 70% とすると対水塩分では 20% となる。これに蛋白質分解酵素を添加し、パッキン付きのガラスポットに入れ、30℃ および 50℃ の恒温槽に保存し、時々攪拌しながら分解反応を行わせた。経時的にサンプリングし、2.2 に示す方法でアミノ態窒素を測定した。

50℃分解物については 70 日目に、30℃分解物については 150 日目に粗めのガーゼ状の布を用い、一昼夜かけて粗濾過を行った。この濾過は未分解の骨、ひれなどを除去する目的で行った。濾紙を用いて濾過した後火入れ殺菌を行った。殺菌条件は 85℃ 15 分間とし、品温到達からの経過時間とした。火入れ後再度濾紙濾過を行い、濾液を鮎醤油とした。

2.2 可溶性アミノ酸の測定

旨味の指標として Sφ rensen の考案したホルモール窒素定量法⁽⁴⁾を行うことで可溶性アミノ酸量を求めた。

サンプル 2g に蒸留水を加え 50g とし、5 分間攪拌した後、濾過した。この濾液 10ml にフェノールフタレイン指示薬 2~3 滴加え、0.1N NaOH 溶液で中和した。これに予め中和した中性ホルマリン溶液を 5ml 加え、再び 0.1N NaOH 溶液で中和滴定を行った。この中和に要したアルカリ量を T(ml) とし、次式によりアミノ態窒素量を算出した。ただし、F は 0.1N NaOH 溶液の力価とした。

$$\text{アミノ態窒素 (g/100g)} = T \times F \times 0.0014 \times \frac{50}{10} \times \frac{100}{2}$$

2.3 魚醤油の製品分析

2.3.1 全窒素

魚醤油サンプルを蒸留水で希釈し、微量窒素分析装置 TN-05 (三菱化成株) による全自動分析に供した。

2.3.2 食塩分

魚醤油サンプルを蒸留水で希釈してモール法⁽⁵⁾に従って分析した。

2.3.3 アンモニア態窒素

アルカリ条件下で揮発する揮発性塩基物質を測定することでアンモニア態窒素量とした。すなわち、魚醤油サンプル2mlに蒸留水100mlを加えて蒸留器にセットし、閉鎖系で40%NaOH 20mlを添加して蒸留した。留液について0.1N H₂SO₄で滴定して揮発性塩基物質(アンモニア態窒素)を定量した。

2.3.4 揮発性有機酸

酸性条件下で揮発する成分をガスクロマトグラフィー-質量分析計(GCMS)で分析した。すなわち、魚醤油サンプル4.5mlにリン酸0.5mlを加えてヘッドスペースサンプラーを搭載したGCMS (PERKIN ELMER社)での分析に供した。分析条件を以下に示す。

Column : DB-WAX (J&W Scientific, 60m×0.32mm.i.d.)
Temp. : 50°C(5min)→5°C/min→230°C(5min)
Carrier : He (12psi)

3. 結果及び考察

3.1 酵素による鮎魚醤油の製造について

数種の蛋白質分解酵素について仕込み試験を行った。

Fig.2, 3 にコントロール(酵素なし) および代表的な蛋白質分解酵素 4 種類 (A~D) を使用して仕込みを行った時の各温度における可溶性アミノ酸の生成過程を示す。経過日数(横軸)に対して 2.2 に従って求めたホルモール態窒素を可溶性アミノ酸濃度(縦軸)としてプロットした。各温度とも日数が経るに従って蛋白質が分解されてアミノ酸に変換され、旨味が増強していることがわかる。添加した蛋白質分解酵素 A, B, C についてはコントロールと大きな差はないが、蛋白質分解酵素 D で特徴的にアミノ酸の増加が見られた。分解工程は 30°C では 50 日間で、50°C では 30 日間で終了しているように見受けられるが、その後のハンドリングに影響する流動性や香りの面から 30°C では 150 日間、50°C では 70 日間まで延長して分解反応を継続した。

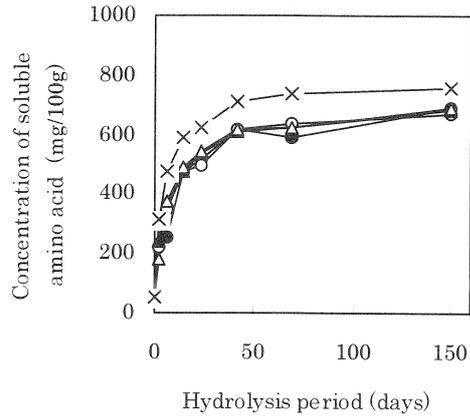


Fig.2 The effect of the addition of enzymes towards AYU-protein hydrolysis at 30°C

● Control ○ Enzyme A ▲ Enzyme B
△ Enzyme C × Enzyme D

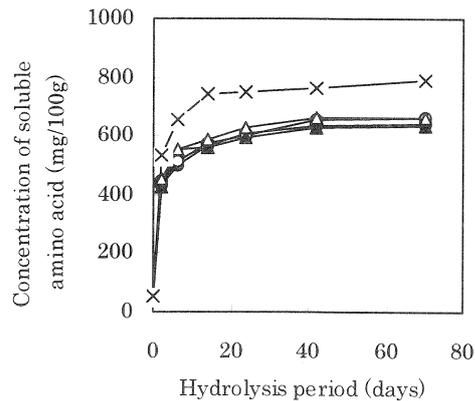


Fig.3 The effect of the addition of enzymes towards AYU-protein hydrolysis at 50°C

● Control ○ Enzyme A ▲ Enzyme B
△ Enzyme C × Enzyme D

3.2 鮎魚醤油製造における油分の分離について

魚には種類の違いや季節によって差異はあるものの脂肪分が含まれている。分解工程が終了した時点(諸味)では、この脂肪分と水分(魚醤油)とが未分解の蛋白質などの作用によりエマルジョン化しており、魚醤油と油分との分離が非常に困難である。一般的には、諸味を濾過するか、もしくは液体をくみ出し、煮沸殺菌後油分を除去している。濾過工程での油分離が不十分であると製品中に油臭さや生臭さのような異臭が残存したり、清澄

化ができずに製品価値がなくなったりと様々な不都合が発生する。一般的な方法では油分と魚醤油とのエマルジョン状態で煮沸するため油臭さが魚醤油に移行し品質低下を引き起こす。また、分解工程ではエマルジョン化により分解効率の低下が考えられる。

このように魚体由来の油分に関する問題点は非常に多く、油分の除去を効率よく行うことが高品質の魚醤油製造に欠くことのできないものである。最終段階で吸着樹脂等を用いて除去する方法などが考えられるが、そのような後処理を行えば旨味成分などの有用成分の消失も懸念される⁽³⁾。

本研究では、蛋白質分解酵素 D を用い、分解温度を変化させることにより効率よく油分を除去することを見出した。各種蛋白質分解酵素を用い、温度処理を施した後静置した諸味を Fig.4 に示す。コントロール、蛋白質分解酵素 A~C までは 3 層に分離しており、最下層（重いもの）から骨・ひれなど固形物層、分解液層（魚醤油）、未分解の浮遊物層であった。蛋白質分解酵素 D で分解させたものは 3 層の上部に油層（黒い層）が分離した。蛋白質分解酵素 B でも若干確認できた。本法によると諸味段階で油分が分離するため濾過前に油分を除去でき、さらに油分と共に加熱すること（一般的な油除去は濾過後に煮沸除去している）による油臭さの魚醤油への移行や過加熱による焦げ臭さの発生等を抑えることができた。

また、この写真からは、蛋白質分解酵素を添加したものはコントロールに比べ分解液層の体積が大きく、分解がより進行していることが推察でき、製造工程の改善（歩留まりの向上）が確認できた。特に蛋白質分解酵素 D では顕著であった。この写真では確認しづらいが、分解液層の清澄度も蛋白質分解酵素 D で最も高く、さらに分解

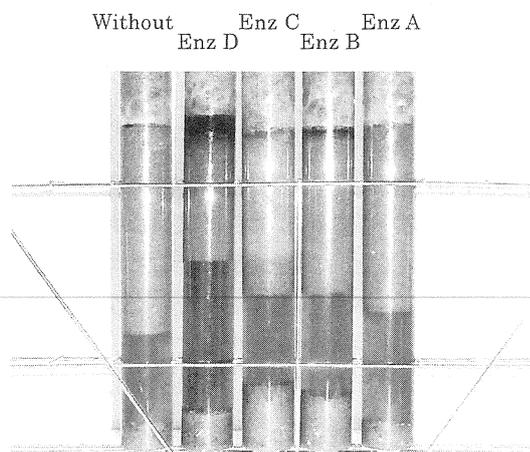


Fig.4 The hydrolysis of AYU protein with or without enzyme

液層と未分解物層との界面も非常にクリアなものであった。このことは分解物の粘度が低いことが要因となっており、濾過工程等の処理を考えると非常にハンドリングしやすい諸味となっていた。以上の点を総合して蛋白質分解酵素 D は鮎魚醤油製造に適した酵素であるといえる。

3.3 鮎魚醤油の特徴について

3.3.1 鮎魚醤油の旨さについて

鮎魚醤油および他の魚醤油（試作品、市販品を含む）の成分分析の結果を Table I にまとめる。鮎魚醤油旨味の指標である全窒素は、鮎魚醤油で 2.4%と高い値であり、通常の大豆醤油の分類では最も旨味の多い種類よりも高濃度であった。このことから鮎魚醤油は“うまい”調味料であるといえる。

Table I The character of fishsauces

	Total N	Salt	Notes
	g/100ml		
AYU	2.40	22.2	
TEST A	2.63	17.3	AJI
TEST B	2.26	16.6	IWASHI
TEST C	3.35	15.1	SABA
Nuoc mam	3.54	26.4	
Nam plara A	2.73	28.1	
Nam plara B	2.08	25.1	
Nam plara C	2.01	27.4	
Nam plara D	2.13	26.0	
Nam plara E	1.34	27.1	
Nam plara F	2.13	26.5	
Nam plara G	2.13	26.9	
Nam plara H	1.39	28.4	
Syo-turu A	1.45	20.7	
Syo-turu B	0.48	30.6	
TAI-Hishio	1.74	12.2	

3.3.2 鮎魚醤油の香りについて

鮎魚醤油の最大の特徴は、臭み・生臭みがほとんど感じられない点である。この点を科学的に解明するために分析を行った。外国産の魚醤油のうち臭みの最も強いものについてガスクロマトグラフィー質量分析（GCMS）を行った。Fig.5 に示すように嫌気的な醗酵で発生すると考えられる臭み成分としてプロピオン酸・酪酸・イソ吉草酸が検出された。しかしながら、鮎魚醤油からは同じ条件での分析では、上記臭み成分は検出されなかった。これら 3 種の有機酸を指標に鮎魚醤油を含む各種魚醤油の分析を行った。Table II に示すように鮎魚醤油からは臭み成分は検出されず、海産魚醤油に比較して明らかに臭みがないことが判明した。

アンモニア成分の分析も行った（Table II）。アミノ酸

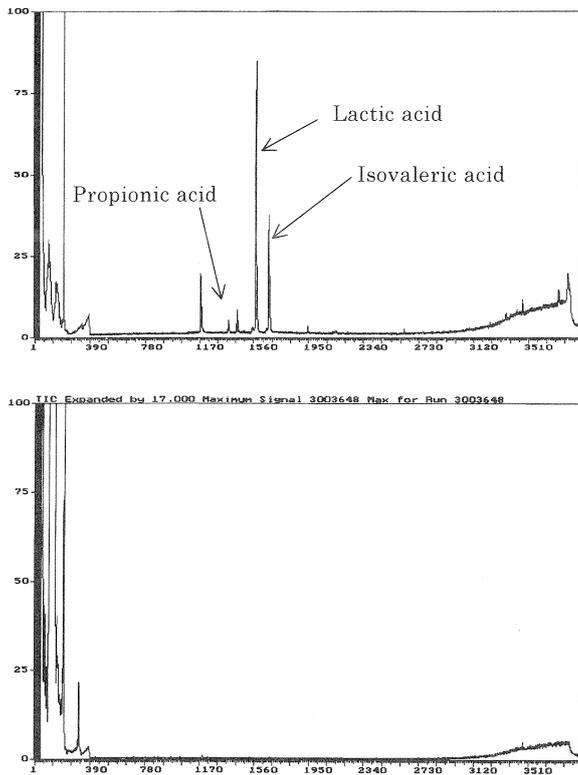


Fig.5 GCMS pattern of volatile compounds of fishsauces under acidic condition
upper : Nuoc mam
lower : AYU-fishsausage

からの脱アミノ作用によりアンモニアが、脱炭酸作用によりアミンがそれぞれ発生する。この反応は微生物によって制御されているため腐敗の指標ともなっている⁶⁾。本研究ではアルカリ条件下揮発性塩基物質を定量し、アンモニア態窒素として評価した。

全窒素に対するアンモニア態窒素の比を算出したところ、海産魚醤油よりも明らかに低い値であった。つまり鮎魚醤油ではアンモニアの発生がかなり抑えられており、この点からも鮎魚醤油は臭みの少ない魚醤油であることが明らかとなった。官能検査の結果から比で0.10を越えるとクセが感じられ、臭い・生臭いという状態になるが、鮎魚醤油のように0.10以下の値であれば、臭みを感じないことが明らかとなった。これは鮎のような淡水魚を原料として選択することが大きな原因と考えられる。

臭み成分（アンモニアと数種の有機酸）の発生は魚体に由来する微生物によって分解中に嫌氣的に醗酵が進むことによるものと考えられる。通常微生物の成育は塩濃度がある程度高くなると抑えられるが、一般的な魚醤油の原料である海産魚介類の場合は魚体由来の微生物が耐塩性を有していることが考えられる。よって魚醤油製造の高塩濃度下でも嫌気醗酵が進み、臭みが発生すると思われる。しかしながら、鮎のような淡水魚の場合、魚体に由来する微生物は耐塩性を有しておらず、魚醤油製造の高塩濃度下では死滅してしまい、臭みの発生も起こらないと考察される。

また、海産魚介類の腐敗臭の原因であるトリメチルアミンはアミノ酸の脱アミノ化で発生したアンモニアから生成されるが、その前駆体であるトリメチルアミンオキサイドは海産魚介類に特異的に含まれており、淡水魚にはほとんど含まれていない⁶⁾。この点からも鮎のような淡水魚を原料とすることで臭みの少ない魚醤油の開発が可能となったと考察できる。

分析では明らかな数値として表すことができないが、臭み発生のもう1つの原因として油臭があげられる。この点については、3.2に述べたように油分離技術を開発

Table II The aromatic character of fishsauces

	Volatile organic acid			Volatile basic compound			Notes
	Propionic mg/100ml	Lactic mg/100ml	Isovaleric mg/100ml	Total N① g/100ml	Ammonium N② g/100ml	②/①	
AYU	0	0	0	2.40	0.17	0.07	
TEST A	0	0	450	2.63	0.52	0.20	AJI
TEST B	0	0	290	2.26	0.44	0.19	IWASHI
TEST C	0	0	3	3.35	0.50	0.15	SABA
Nuoc mam	138	187	27	3.54	0.48	0.14	
Nam plara A	110	30	3	2.73	0.35	0.13	
Nam plara B	0	3.8	1	2.08	0.26	0.13	
Nam plara C	117	66	4	2.01	0.31	0.15	
Nam plara D	ND	ND	ND	1.39	0.41	0.29	
Syo-turu A	0	21	0	1.45	0.19	0.13	
Syo-turu B	0	1	0	0.48	0.06	0.13	
TAI-Hishio	ND	ND	ND	1.74	0.29	0.17	

ND: Not determined

しており、高品質な魚醤油となっている。

3.4 技術の特許化および製品化について

以上の研究成果をもとに鮎を原料に用い臭み・生臭みを軽減した魚醤油の製造について特許を出願した。これは共同研究の成果であり、大分県と合名会社まるはらの共同出願である。また、油分分離技術については独自技術として大分県単独で特許出願を行った。

今回開発した鮎魚醤油は、商品名『鮎魚醬』として共同研究先である合名会社まるはらから発売となる予定である。



鮎魚醤油の試作品

3.5 魚醤油の今後の展開について

従来の魚醤油は独特な香りから日本人には馴染みのない調味料であった。今回開発した鮎魚醤油は臭気物質の発生もなく、アンモニアの含有量が極めて低いことから非常に食べやすい、日本人にも好まれる魚醤油に仕上がっている。このことは淡水魚を原料とした魚醤油全般についてもあてはまる可能性があり、鮎以外にも魚醤油に適した淡水魚の模索が可能となる。

大分県だけに留まらず、全国各地には規格外品等で淡水魚が産業廃棄物になっている可能性が予想される。今回の研究成果を応用し、調味料化することが可能となれば、大きな産業に発展することが期待される。

4. まとめ

酵素利用技術の応用研究の一環として日田市特産鮎を原料とした新規魚醤油の開発を行ったところ、以下の知見を得た。

1. 数種の蛋白質分解酵素について仕込み試験を行ったところ、使用した酵素の中である種の蛋白質分解酵素で特徴的にアミノ酸の増加が見られた。
2. この蛋白質分解酵素を添加したものは未添加に比べ分解液層の体積が大きく、分解がより進行していることが推察でき、製造工程の改善（歩留まりの向上）が確認できた。また、分解液層の清澄度も高く、さらに分解液層と未分解物層との界面も非常にクリアなものであった。このことは分解物の粘度が低いことが要因となっており、その後の処理工程でのハンドリングが容易となった。
3. 分解中および分解終了時に魚体由来の脂肪分と水分

(魚醤油)とが未分解の蛋白質などの作用によりエマルジョン化し、製造工程や製品に悪影響を及ぼしていた。上記酵素を用い、分解温度を変化させることにより効率よく油分を除去することを見出した。本法によると諸味段階で油分が分離するため濾過前に油分を除去でき、油臭さの魚醤油への移行や焦げ臭さの発生等を抑えることができた。以上の点を総合して本酵素は鮎魚醤油製造に適した酵素であるといえる。

4. 鮎魚醤油の旨味の指標である全窒素は 2.4%と高い値であり、通常の大豆醤油の分類では最も旨味の多い種類よりも高濃度であった。
5. 鮎魚醤油の最大の特徴は、臭み・生臭みがほとんど感じられない点である。一般的な魚醤油から検出される臭み成分（プロピオン酸・酪酸・イソ吉草酸）は、鮎魚醤油からは確認されなかった。
6. アンモニア態窒素として揮発性塩基物質を測定し、全窒素に対する比を算出したところ、鮎魚醤油では海産魚醤油よりも明らかに低い値であった。つまり鮎魚醤油ではアンモニアの発生がかなり抑えられており、この点からも鮎魚醤油は臭みの少ない魚醤油であることが明らかとなった。これは鮎のような淡水魚を原料として選択することが大きな原因と考えられる。
7. 鮎を原料に用い、臭み・生臭みを軽減した魚醤油の製造について大分県と合名会社まるはらの共同で特許を出願した。また、油分分離技術については大分県単独で特許出願を行った。
8. 今回開発した鮎魚醤油は、商品名『鮎魚醬』として共同研究先である合名会社まるはらから上市される予定である。

本研究は、大分県産業科学技術センターと合名会社まるはらの平成13年度共同研究および大分県産業科学技術センター重点研究として行ったものである。

参考文献

- 1) 海老根英雄, 千葉秀雄:「味噌・醤油入門」, (1985), p161-167, 日本食糧新聞社
- 2) 柳田藤治: 食品工業, 39(10), (1996), p16-23
- 3) 藤井建夫:「魚の発酵食品」, (2000), p57-75, 成山堂
- 4) 国税庁所定分析法注解, (1981), p20-22
- 5) 前田安彦:「初学者のための食品分析法」, (1990), p79-81, 弘学出版
- 6) 総合食品安全事典, (1994), p426-428, 産業調査会 事典出版センター