かぶらずしの糖、有機酸及び 遊離アミノ酸組成†

寺沢なお子*・出村瑞恵*・戸田桃子*

Sugar, Organic Acid and Free Amino Acid Composition in KABURAZUSHI

(Studies on the KABURAZUSHI Part 1)

Naoko TERASAWA*, Mizue DEMURA*
and Momoko TODA*

* Faculty of Education, Kanazawa University,
Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-11

"KABURAZUSHI" is a traditional fermented food in Kanazawa district, made of turnip and yellowtail. The sugar, organic acid and free amino acid composition and bacteria counts of KABURAZUSHI were investigated. The bacteria counts of *Lactococci* were $10^3 \sim 10^7$ /g, and that of both *Lactococci* and *Lactobacilli* increased to about 10^6 /g in 9 day. In all samples, the major sugar component was glucose. Sucrose was decreased during fermentation, and not detected in the final stage. The major organic acid components were acetic acid and formic acid in all samples. Lactic acid increased to about 10 times during fermentation. The total amounts of free amino acids were 231~535 mg/100 g. Sensory evaluations indicated that the sample has strong "umami" and has not so strong sweetness and sourness was preferred most.

(Received Jun. 16, 1997; Accepted Oct. 7, 1997)

かぶらずしは北陸地方、特に金沢における伝統的な郷土料理で、主に冬季に塩漬けたカブとブリを重ね麴と共に重石をして2~3週間漬けたものである。魚の熟成したものと麴を使用する点が「いずし」や「押しずし」と異なり、「馴れずし」の範疇に入る¹⁾。かぶらずしの味はその発酵に関与する微生物によって産生される糖、有機酸、遊離アミノ酸などにより特徴づけられると思われる。類似の発酵食品の成分組成や微生物組成に関

する研究では、キムチ²⁾、ニシン漬³⁾、壺酢⁴⁾、しば漬⁵⁾、タイの塩辛カピ⁶⁾、いずし及び切り込み⁷⁾についてなどがあるが、かぶらずしに関する詳細な研究は報告されていない。そこで本報では、かぶらずしの微生物叢と各種成分組成、発酵過程における成分変化、官能検査による味の違い等について調べた。

1. 実験方法

(1) 実験材料

平成8年10月~平成9年1月に金沢市内の漬物専門店で購入したかぶらずし3検体と、一般家庭の方法に準拠し、市販の材料を用いて以下のように調製したかぶらずし1検体について0, 3, 7, 9, 14日目に採取したものをを用いた。3枚おろしのブリ身は剥皮し体軸に平行に2等分して0.80 kgとし、同量の塩(0.80 kg)を振り冷蔵庫中(10℃)に14日間保存した。カブ(大17個、総重量5.1 kg)は2 cm厚に輪切りにし、厚みの中央に4/5の切り込みを入れた。これをカブ重量の4% (0.20 kg)の塩で漬け、重石(4.5 kg)をして冷蔵庫中で4日間保存した。塩漬け後のブリは軽く水洗いし水分をふき取った後、6~7 mm厚に切り軽く酢洗いし、水気を切ったカブの切り込みの間に挟んだ。「かぶらずしの素」(成分: 米麴、白米、酒精、塩、吉田醸造食品製) 0.70 kgと軟らかめの飯0.22 kgを混ぜ、一部を漬物容器(5 l)の底に敷き、この上に上記のカブを並べ、千切りにした人参(0.20 kg)をまいた。以下同様に順に重ね、総重量(4.7 kg)とほぼ同量の重石(4.5 kg)をして14日間冷蔵庫に保存した。

(2) 微生物の検索

食品衛生検査指針⁸⁾に準じてかぶらずし20 gに滅菌生理食塩水を加え2分間ホモジナイズし、遠心分離(3000 rpm, 10分)後抽出液を滅菌生理食塩水で100 mlに定容化したものを原液として混釈平板法による菌数測定を行った。

i) 一般生菌数⁹⁾

カビサイジン(日本製薬製)を100 µg/ml添加した変法普通寒天培地(肉エキス0.2%, ペプトン0.2%, 粉末寒天1.5%, pH 7.2)を用い、32℃で48時間培養後、コロニー数を計測した。

ii) 乳酸菌総数⁹⁾

カビサイジン100 µg/mlを添加したBCP加プレートカウント寒天培地(栄研製)に炭酸カルシウム0.5%を加え、32℃で72時間培養後周縁に透明環を形成して発

† かぶらずしに関する研究(第1報)

* 金沢大学教育学部(〒920-11 石川県金沢市角間町)

育した黄色コロニー数を計測した。

iii) 乳酸桿菌数³⁾

カビサイジン 100 µg/ml を添加した Acetate agar⁹⁾ 基礎培地に、別に滅菌した 4 M 酢酸緩衝液 (pH 5.3) を、培地 100 ml に 6 ml 添加し、32°C で 96 時間培養後、コロニー数を計測した。

iv) グラム陰性細菌数

CVT 寒天培地 (栄研製) を用い、28°C、48 時間培養後発育した大型の赤色集落をグラム陰性菌とした。

v) 酵母⁴⁾

カビサイジン 10 µg/ml を添加した YM 寒天培地⁴⁾ を用い、28°C で 96 時間培養後、コロニー数を計測した。

(3) 糖及び有機酸の定量

かぶらずし 20 g に水を加え 2 分間ホモジナイズした後遠心分離 (3 000 rpm, 10 分) し、抽出液を水で 100 ml に定容化した。これをエタノール濃度 75% 溶液にして除タンパクした後クロマトディスク (0.45 µm) でろ過し、HPLC 用試料とした。糖の分析は、カラム: 島津 Shim-pack CLC-NH₂ (6.0 mm i.d.×150 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: アセトトリル-水 (70:30), 流速: 1.2 ml/min, 検出器: 島津 RID-6 A 示差屈折計, ポンプ: 島津 LC-9 A, データ処理機: 島津クロマトパック C-R 5 A, 注入量: 10 µl で行った。有機酸の分析は、カラム: 島津 Shim-pack SCR-101 H (7.9 mm i.d.×300 mm), カラム温度: 50°C, 移動相: 過塩素酸水溶液 (pH

1.5), 流速: 1.2 ml/min, 検出器: 島津 SPD-2 A 紫外分光光度計, 測定波長: 210 nm, ポンプ, データ処理機: 糖の場合と同じ, 注入量: 10 µl で行った。

(4) 遊離アミノ酸の定量

かぶらずし 20 g に 0.02 N 塩酸を加え 2 分間ホモジナイズした後遠心分離 (3 000 rpm, 10 分) し、抽出液を 0.02 N 塩酸で 100 ml に定容化した。これを 0.02 N 塩酸で適宜希釈した後限外ろ過膜モルカット (ミリポア製, Mw 5 000) でろ過し、アミノ酸分析用試料とした。装置は日立高速アミノ酸分析計 L-8500 形を用いた。

(5) 官能検査

かぶらずし 4 検体 (市販 3; No. 1~No. 3, 自家製 1; No. 4 とする) の官能検査は甘味, 酸味, 旨味の強さ及び総合評価について 7 段階の評点法により行った。すなわち甘味については非常に甘い (7)~非常に甘くない (1) の 7 段階である (以下同様)。また試食による順位効果をなくするため, パネルにより検体の試食順序を指定した。パネルは金沢大学の健康な学生及び教職員 (21~50 歳) 24 名である。結果は二元配置法による分散分析を行い, F 検定により有意差検定を行った。

2. 実験結果及び考察

(1) かぶらずしの微生物叢

市販検体の各微生物叢について Fig. 1 に示した。グラム陰性細菌数は各検体間で大差なかったが、乳酸菌数については 10³~10⁷/g と差がみられ、No. 2 では特に乳酸

Fig. 1 Number of microbial flora of KABURAZUSHI

■ Total aerobic bacteria ; ▨ Lactic acid bacteria ;
▩ Lactobacilli ; □ Gram-negative bacteria ;
░ Yeast.

菌総数が少なかった。発酵過程中的各微生物叢の推移は Fig. 2 の通り、漬け込み初期においては一般生菌数、乳酸菌総数、酵母数共に 10^4 /g 程度であったが、乳酸桿菌は 0 日目では検出されず、3 日目でも 10^2 /g 程度であった。これより、材料由来の乳酸菌は主に乳酸球菌であると推定された。乳酸菌総数、乳酸桿菌は 3~9 日間で急激に増加しいずれも 10^6 /g 付近に達したが、それに伴い、グラム陰性細菌は顕著に減少した。

Fig. 2 Changes in microbial flora during fermentation of KABURAZUSHI

—●— Total aerobic bacteria ; —■— Lactic acid bacteria ; —▲— Lactobacilli ; —○— Gram-negative bacteria ; —□— Yeast.

(2) 糖組成

Table 1 に示す通り、最も含有量の多い糖はグルコースであり、各検体の総糖含有量の 58.3~88.4% を占めた。次いでフルクトース、スクロース、マルトースの順に多かった。スクロースは No. 1 と No. 3 で 200 mg/100 g 程度検出され、一方自家製 0 日目では 150 mg/100 g 検出されたが発酵に伴い減少し、最終的に消失していることから、No. 1 と No. 3 には材料由来のスクロースが多いかまたはスクロースの添加も考えられる。マルトースは発酵経過に伴って増加したが、これはデンプンの分解によると考えられる。

(3) 有機酸組成

結果を Table 2 に示した。最も含有量の多い有機酸は酢酸であり、市販品で各検体の総有機酸含有量の 48.4~49.0%，自家製で 45.2% であったが、これは材料（ブリの酢洗い）由来と考えられる。次いでギ酸が多かったが、検体間で大差なかった。乳酸含量は乳酸菌数とは必ずしも一致しなかったが、乳酸菌数の特に少なかった No. 2 の乳酸含量は他検体の半分程度であった。また発酵過程において乳酸は最も顕著に増加し、約 10 倍に達した。ギ酸やピログルタミン酸も若干の増加が見られたが、これはブリの熟成に伴って生成したものと考えられる。またリンゴ酸は徐々に減少したが、これについては菊地ら³⁾、BREIDT ら¹⁰⁾ が、リンゴ酸脱炭酸酵素活性をもつ乳酸菌によるものであることを報告している。

Table 1 Sugar composition of KABURAZUSHI

(mg/100 g)

Sugar	Fermentation time (days)					Sample number		
	0	3	7	9	14	No. 1	No. 2	No. 3
Fructose	305	320	240	280	290	430	195	425
Glucose	965	2 050	2 750	2 210	3 050	875	1 880	1 800
Sucrose	150	85.0	55.0	—	—	196	42.5	234
Maltose	—	42.5	55.5	77.5	105	—	40.0	75.0

Table 2 Organic acid composition of KABURAZUSHI

(mg/100 g)

Organic acid	Fermentation time (days)					Sample number		
	0	3	7	9	14	No. 1	No. 2	No. 3
Malic acid	56.0	55.0	36.0	31.0	33.0	20.0	38.0	20.0
Lactic acid	17.5	60.0	52.5	72.5	120	103	60.0	100
Formic acid	180	160	205	208	204	208	220	205
Acetic acid	294	295	278	275	298	318	304	320
Pyroglutamic acid	1.70	6.00	2.80	2.50	4.50	8.30	5.70	7.50

Table 3 Free amino acid composition of KABURAZUSHI (mg/100 g)

Amino acid	Fermentation time (days)				Sample number		
	3	7	9	14	No. 1	No. 2	No. 3
α -AAA* ¹	1.86	2.05	1.39	1.72	1.95	2.80	1.20
α -ABA* ²	—	—	—	—	—	1.13	—
γ -ABA* ³	14.0	21.8	22.5	38.6	83.4	57.1	32.0
β -AiBA* ⁴	—	0.455	—	—	1.56	0.555	0.755
Ala	18.4	19.1	18.7	35.3	23.3	40.9	21.2
β -Ala	—	0.530	0.590	—	0.840	0.805	0.285
Ans* ⁵	—	—	—	—	16.6	11.5	—
Arg	22.3	18.3	16.7	23.1	13.2	20.5	12.1
Asp	15.2	14.0	13.7	24.5	9.27	27.9	7.99
AspNH ₂ * ⁶	3.20	4.32	3.56	3.78	6.17	7.97	2.19
Car* ⁷	23.0	11.8	9.51	21.2	—	—	6.53
Cys	2.76	2.12	1.80	3.24	2.20	4.42	1.20
Cysthi* ⁸	—	1.11	—	—	1.04	1.32	0.850
EOHNH ₂ * ⁹	1.16	1.92	1.41	3.02	2.01	2.67	1.84
Glu	25.0	16.6	12.4	26.5	57.5	28.7	28.9
Gly	7.10	7.86	7.48	14.9	7.31	17.9	6.05
His	58.0	31.1	37.7	43.1	43.9	35.9	16.4
Hyls* ¹⁰	—	—	—	—	—	1.09	—
Ile	8.06	9.22	8.44	15.8	7.95	19.1	6.95
Leu	25.8	21.9	19.9	32.1	14.7	40.2	13.6
Lys	19.6	18.4	17.2	26.2	13.1	34.6	14.6
1-Mehis* ¹¹	—	0.300	—	—	0.745	0.510	0.705
Met	8.28	7.00	6.60	9.92	5.18	10.8	4.35
Orn* ¹²	4.90	5.13	4.85	12.3	0.485	23.1	1.44
Phe	14.1	12.2	11.6	19.8	9.77	21.2	7.76
PEA* ¹³	—	—	—	—	2.38	—	—
p-Ser* ¹⁴	—	0.590	0.510	—	—	0.860	0.560
Pro	5.64	5.95	4.96	10.8	4.33	15.1	4.47
Sar* ¹⁵	—	0.510	—	—	0.460	0.775	—
Ser	10.9	11.1	11.0	21.9	8.74	19.6	8.30
Tau	17.3	13.2	8.60	11.8	8.11	11.9	3.48
Thr	7.14	7.43	7.20	14.1	7.94	15.1	7.16
Trp	4.96	2.99	2.26	4.08	3.17	5.83	1.69
Tyr	4.24	3.26	2.63	1.56	6.38	20.7	6.38
Urea	—	—	—	—	—	6.90	—
Val	11.3	11.5	11.5	22.0	10.5	25.1	10.1
Total	334	284	265	441	374	535	231

*¹ α -Aminoadipic acid, *² α -Amino-n-butyric acid, *³ γ -Amino-n-butyric acid, *⁴ β -Amino iso butyric acid, *⁵ Anserine, *⁶ Asparagine, *⁷ Carnosine, *⁸ Cystathionine, *⁹ Ethanolamine, *¹⁰ Hydroxylysine, *¹¹ 1-Methylhistidine, *¹² Ornithine, *¹³ Phosphoethanolamine, *¹⁴ Phosphoserine, *¹⁵ Sarcosine.

また表には示さなかったが、同様に抽出した試料について pH 及び 0.01 N NaOH を用いた中和滴定による総酸量を求めた。その結果、pH は市販、自家製検体とも主に 4.7 前後と大差なく、総酸量は検体 10 g 当たりの滴定 ml 数で市販品では 6.5~7.9、発酵過程では終始主に 9.5 前後であった。これは有機酸の測定結果とは特に一致しなかった。

(4) 遊離アミノ酸組成

Table 3 に示す通り、総アミノ酸量は 231~535 mg/100 g の範囲で、遊離アミノ酸では γ -アミノ酪酸、アラニン、グルタミン酸、ヒスチジン、ロイシン等が多かった。いずれし及び切り込みにおいてはグルタミン酸、グリシン、ロイシン、アンセリン等が多かったとの報告がある⁷⁾。一方発酵経過に伴い、総アミノ酸量は最終的に若干増加した。また No.2 からのみ尿素が検出されたが、No. 2 では乳酸菌の増殖が少なかったため他の微生物が成育しタンパク質を分解したと考えられる。タイの塩辛では食塩濃度の低い検体で尿素が多く検出されている⁸⁾。一方 Table 2, Table 3 より、グルタミン酸含量が少ない検体はピログルタミン酸含量も少ないことから、

本検体ではグルタミン酸含量は麹菌のグルタミナーゼではなくペプチダーゼの活性に影響されている可能性がある¹¹⁾。

(5) 官能検査

結果を Table 4 に示す。甘味については No.4 (自家製 14 日目) > No. 2 > No. 3 > No. 1 の順に強く感じられ、No. 4 は他の 3 検体との間に有意に差があった ($p < 0.01$)。No. 4 の有意な評価はグルコースとマルトースを多く含有した (Table 1) ことによると考えられる。また No. 4, No. 2 は、スレオニン、セリン、グリシン、アラニン、リジン、プロリンなど甘味系のアミノ酸¹²⁾ も多く含有していた (Table 3)。酸味は、No. 1 > No. 3 > No. 4 > No. 2 の順で強いという結果を得た。これは酢酸、ギ酸、乳酸の合計量 (Table 2) の順と一致するが、総酸量、pH 測定の結果とは一致しなかった。旨味は、No. 3 > No. 2 = No. 4 > No. 1 の順で強いという結果を得た。総合評価では No. 3 > No. 4 > No. 2 > No. 1 の順で、No. 3 と No. 1 の間には有意に差があった ($p < 0.01$)。No. 3 は旨味が最も強く、甘味、酸味が強すぎない点が好まれたと考えられる。

Table 4 Sensory evaluation of KABURAZUSHI

	Sample	Score	$F_0^{1)}$	Significant difference		
				No. 1	No. 2	No. 3
Sweetness	No. 1	3.33 $\pm$ 1.18	11.21**			
	No. 2	4.08 $\pm$ 1.47		n.s.		
	No. 3	3.67 $\pm$ 1.03		n.s.	n.s.	
	No. 4 ^a	5.33 $\pm$ 1.31		**	**	**
Sourness	No. 1	4.33 $\pm$ 1.46	3.55*			
	No. 2	3.13 $\pm$ 1.33		*		
	No. 3	3.63 $\pm$ 1.32		n.s.	n.s.	
	No. 4 ^a	3.21 $\pm$ 1.41		*	n.s.	n.s.
Taste (umami)	No. 1	3.54 $\pm$ 1.22	5.46**			
	No. 2	4.25 $\pm$ 1.33		n.s.		
	No. 3	4.96 $\pm$ 0.93		**	n.s.	
	No. 4 ^a	4.25 $\pm$ 1.16		n.s.	n.s.	n.s.
Overall evaluation	No. 1	3.17 $\pm$ 1.40	4.68**			
	No. 2	3.96 $\pm$ 1.40		n.s.		
	No. 3	4.92 $\pm$ 1.15		**	n.s.	
	No. 4 ^a	4.13 $\pm$ 1.79		n.s.	n.s.	n.s.

n=24.

¹⁾ $F_{0.01}^3(0.01)=4.07$, $F_{0.05}^3(0.05)=2.73$.

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; n.s., not significant.

^a, fermentation time-14 days.

3. 要約

かぶらずしの微生物組成と糖、有機酸及び遊離アミノ酸組成、官能検査における好ましき等について検討した。

(1) 材料由来の乳酸菌は乳酸球菌が主であったが、乳酸菌総数は検体間の差が大きく、 $10^3 \sim 10^7$ /gであった。また発酵に伴い乳酸菌が増加し、グラム陰性菌が減少した。

(2) 糖組成ではグルコースが最も多く、総糖量の58.3～88.4%であった。また市販かぶらずしではスクロースが検出されたが、自家製では発酵と共に消失した。有機酸組成では酢酸（総有機酸量の45.2～49.0%）とギ酸が多く、乳酸も発酵と共に約10倍に増加した。総アミノ酸量は231～535 mg/100 gであり、 γ -アミノ酪酸、アラニン、グルタミン酸、ヒスチジン、ロイシン等が多かった。また発酵経過に伴い総アミノ酸量は若干増加した。

(3) 官能検査においては総合評価で旨味が強くかつ甘味、酸味が強すぎないものが好まれた。

本論文はお茶の水女子大学生生活科学部・本間清一教授にご査読いただきました。厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 税田正幸：食の科学，10月号（通巻224号），p.2（1996）。
- 2) 角野 猛・会田久仁子・金子憲太郎・金田尚志：調理科学，28，253（1995）。
- 3) 菊地政則・中島幸一・浅野行蔵・高尾彰一：食科工，43，176（1996）。
- 4) 小泉幸道・橋口和典・岡本章子・柳田藤治：食科工，43，347（1996）。
- 5) 品川弘子・西山隆造・岡田早苗：食科工，43，582（1996）。
- 6) 角野 猛・会田久仁子・角野幸子・山田幸二：調理科学，29，212（1996）。
- 7) 角野 猛・日野明子・金成朋恵・会田久仁子・角野幸子・山田幸二：調理科学，30，31（1997）。
- 8) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針I（日本食品衛生協会）p.117（1973）。
- 9) 森地敏樹・大山嘉信：日畜会報，43，264（1972）。
- 10) BREIDT, F. and FLEMING, H.P.: *Appl. Environ. Microbial.*, 58, 3845（1992）。
- 11) 大塚謙一編著：醸造学（養賢堂）p.209（1993）。
- 12) 河村洋二郎編著：うま味（共立出版）p.58（1993）。

（平成9年6月16日受付，平成9年10月7日受理）