水産加工廃棄物を原料とした熱水抽出エキス調製の試み

任 惠峰, 劉 徳広, 王 亜軍
遠藤英明, 渡辺悦生, 林 哲仁

(1997年2月3日受付)

Preparation of Hot-water Extract from Fisheries Waste

Huifeng Ren,^{*1,*2} Deguang Liu,^{*2} Yajun Wang,^{*2}
Hideaki Endo,^{*1} Etsuo Watanabe,^{*1} and Tetsuhito Hayashi^{*1}

Hot water extracts were prepared under several different conditions from crab and shrimp shells which previously were not thought of as raw materials for seasoning processing. 1) Extractability of free amino acids, 2) chemical composition of extractive components, 3) sensory evaluation, and 4) a survey on mutagenicity were carried out on these samples to establish better manufacturing requirements for commercial soup bases. The best extractability was obtained at 100°C, for 3 h. A comparison of crab shell extract and commercially available crab seasoning did not show big differences both in their chemical composition or sensory evaluations. Upon concentration, the crab shell extract should have a good chance to be on the market. The shrimp shell extract would need to be adjusted, as its shell-like smell is strong. Mutagenicity was below detectable levels in all samples tested.

キーワード: 加工廃棄物, カニ殻, エビ殻, 熱水抽出エキス, 遊離アミノ酸, 変異原性

水産物は全体に占める不可食部分の割合が多く、水揚げ高の約半分程度は加工残滓となってきた。多獲性魚類の不漁のみならず、公海上での厳しい漁業規制が続いている現在、これら加工廃棄物の有効利用が一層重要な問題となってきた。

われわれは資源有効利用の観点から、これら水産加工廃棄物のうちカニ殻とエビ殻を原料として熱水抽出エキスを調製し、調味素材としての利用の可能性と安全性の検討を行った。現在、カニエキスとして市販されているものの大部分は、加工業者が生ガニをボイルした際の煮汁¹⁾か、または冷凍ガニを缶詰加工する際の解凍ドリップのいずれかを原料としたものである。また工場への聞き取り調査によればエビエキス製造用には、カニの場合のような適当な原料がない²⁾ため、フライ加工用に切除した頭部、および剥きエビ用に加工した残滓である尾部のエビ殻から熱水抽出しているとのことであった。

本研究ではこれまで調味料製造の可能性が全く検討されていなかった、ベニズワイガニをボイルし採肉したあとのカニ殻と、未加熱のブラックタイガー尾部の採肉後のエビ殻を用い、熱水抽出エキスを調製した。これらは

いずれも可食部の肉は全く付いておらず、通常はキチン・キトサン製造原料として安価に売却されている不可食部である。9種類の抽出条件で調製した試作エキスについては、まず主要呈味成分である遊離アミノ酸組成を調べ、その合計量から熱水エキスの至適抽出条件を検討した。そのうち試作品エキスの品質を評価するために、至適条件で調製したカニ殻およびエビ殻エキスのスクレオチド、有機酸、無機イオンの組成を高速液体クロマトグラフィーで測定した。またこれらを調味素材として評価する目的で、工場より別途入手した生ガニ煮汁の他、市販のカニエキスおよびエビエキスについても同様に分析と、官能評価を行った。最後に、これら調味料は工業原料として食品加工に広範に用いられるため、長期に亘って使用した際の安全を保証する目的で、変異原性の有無も測定した。

実験方法

原料 カニ殻および生ガニ煮汁は鳥取県のベニズワイガニ加工場から、エビ殻は香川県のエビフライ加工場から、加工残滓として廃棄されたものを譲り受け、

*1 東京水産大学食品生産学科 (Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108, Japan).

*2 黒竜江商学院 (Heilongjiang Commercial College, 50, Tongda Street District, Harbin, 150076, People's Republic of China).

-30°Cで凍結後保冷箱に入れ、-18°Cで研究室に輸送(宅配便で所要18-20時間)した。原料到着から抽出までの3日間は、-25°Cのフリーザーに一時貯蔵した。市販品としてのカニエキスおよびエビエキスは、静岡県調味料製造会社から試供品を入手し、分析まで-25°Cで凍結保存した。

熱水抽出試作エキスの調製 凍結原料のカニ殻およびエビ殻は、抽出の直前に凍結状態のまま、裁断機で一辺が8-10 mm程度以下の小片に切断した。カニエキス工場での聞き取り調査によれば、熱水抽出は常圧下、97-98°C程度の熱水中で、数時間前後加熱するのが一般的であった。そこで本研究では細切した原料100 gに対して200 mlの水を加え、レトルトパウチに減圧封滅した。100°C加熱、6時間抽出を基準とし、それより10°C高い、または10度低い3種の加熱温度を設定した。また各加熱温度別に、標準条件より長めと短めの計3段階の抽出時間[110°C: 2, 4, 6 h, 100°C: 3, 6, 12 h, 90°C: 6, 12, 18 h]を設定した。抽出液は8,000 rpm, 8°Cで15分間遠心分離し、上澄みをNo. 2の濾紙で吸引濾過してエキスを調製した。これをSep-pack_{C18}で除タンパク、脱脂後、孔径0.45 mmのメンブランフィルターで濾過し、高速液クロ用分析試料とした。

アミノ酸分析 試料を移動相A液で20倍に希釈後、島津LC-6A (Li型) で組んだアミノ酸分析装置に10 mlを注入し、生体液分析用プログラムで分析²⁾した。分析結果はカニ殻エキス、エビ殻エキスおよび生ガニ全個体の煮汁については抽出原料100 gあたりの各アミノ酸のmg数で表示し、市販のカニ、エビエキスは市販品100 g中のmg数で表示した。

ヌクレオチド分析 島津製HPLC (LC-6A, 2液高圧混合方式による50 mMおよび480 mMリン酸緩衝液の2段グラジエント溶出順相分配法, Shimpack WAX-1 4×50 mm, 紫外検出260 nm) で、ATPなど9種の核酸関連化合物を分離、定量した。

有機酸分析 イオン排除タイプのカラム (Shim-pack SCR-101H, 3.8×300 mm) と紫外分光検出器SPD-6A (210 nm) を組み合わせた単一溶媒HPLCに、酸性水(過塩素酸でpH 2.10に調整)を50°C, 1.0 ml/minで送液し、分離定量した。

無機イオン分析 島津製ノンサプレッサー型イオンクロマトシステムHIC-6Aに、陽イオン分析用カラム(IC-C2, 4.6×125 mm)と陰イオン分析用カラム(IC-A3, 4.6×150 mm)を組み合わせて、単一溶媒溶出を行った。溶離液は陽イオン用として5 mM 酒石酸+1 mM 2,6-ピリジンジカルボン酸、陰イオン用には1 mM p-ヒドロキシ安息香酸+4 mM Bis-Trisをそれぞれ、40°Cで1.2 ml/min送液した。

官能評価 まず試料液の電気伝導度($\mu\text{S}/\text{cm}$)を測定(横河電気製, Model SC82)し、その値の最も低かった試作品エキス(カニ殻, 12.75, エビ殻, 7.69)を基準としてその他のものを蒸留水で希釈、電解質濃度を揃えたのち、1.5%相当の食塩を添加した。これらをさらに数段階に希釈し、最も評価を行いやすい濃度を検討したところ1.3倍であったので、すべての被検液に30%相当量の水を加え、実際の官能検査に供した。官能評価は試作品を基準(0点)とし、生ガニ煮汁および市販エキスを5点法(-2~-0~+2点)で採点³⁾した。質問項目としては甘味、旨味などの基本味5項目の他に、においを含めた「エキスとしての好ましさ」を総合評価として回答させた。

変異原性試験 TM677を試験菌として用いるSkopekらの前進突然変異試験法⁴⁾の改良法⁵⁾を、さらに試料量を縮小し、かつ培養器具にタイタープレートを用いるなど実験系の簡易化した前進突然変異試験法⁶⁻⁸⁾を用いた。

結果および考察

アミノ酸の抽出性 3段階の抽出温度の各抽出時間ごとの、カニ殻試作品エキスとエビ殻試作品エキスの遊離アミノ酸の合計量を、一括してFig. 1に示した。カニ殻エキスの場合、いずれの条件で調製したエキスの総量も140-165 mg/原料100 gの範囲にあり、合計量で見ると加熱温度、抽出時間にはほとんど関係なく、カニ殻100 gあたり平均150 mg程度のアミノ酸が抽出されることが分かった。エビ殻エキスの場合アミノ酸の合計量は164-288 mgで、カニ殻から調製したものよりやや高い値を示した。しかし同一抽出温度の中では時間が長くなるに伴って、合計量が逆に減少してしまう傾向が見られた。セリン、スレオニンなどごく一部のアミノ酸は塩酸加水分解時に5-10%程度破壊される⁹⁾ことが分かっているが、中性水溶液中では大半の遊離アミノ酸の場合、100°C付近の高温でも極めて安定性は良いので、この加熱時間経過に伴うアミノ酸量低下の原因は別途究明したいと考えている。最短時間抽出の場合、いずれの加熱温度でも合計270-290 mgのアミノ酸が得られていた。以上の結果から、カニ殻、エビ殻のような加工残滓からエキス成分を抽出する場合、温度に関係なく比較的短時間で十分であることが示された。ただ、110°C抽出には特別の高圧装置が必要となるし、90°C抽出には今回100°Cの2倍程度の時間をかけたが成分的に差がないので、試験的に設定した条件の中では、100°Cで3時間抽出が経済的にも有利であると思われる。

主要なエキス成分の組成 旨味の構成に最も重要な寄与をする¹⁰⁾とされる遊離アミノ酸の、エキスへの抽出

Fig. 1. Total amounts of amino acids extracted from crab or shrimp shells at three different temperatures over varying time periods.

Vertical scale indicates the total amount (mg) of free amino acids extracted from 100 g of raw materials. Horizontal graduation shows three different extraction temperatures. C: crab shell; S: shrimp shell. Numbers next to C or S indicate the length of extraction time (h).

性をその合計量から見たところ、今回設定した条件のなかでは 100°C、3 時間で十分であり、それ以上長い時間抽出をしても成分的には向上しないことが分かった。そこでこの条件で調製したカニ殻およびエビ殻エキスと、比較のため市販品のカニエキスおよびエビエキス、更に市販カニエキスの主要製造原料の一つとなるベンズワイガニ全個体の煮汁、計 5 検体について主要なエキス成分の組成を調べた。

1) 遊離アミノ酸；Table 1 に示すようにカニ殻試作エキスの場合、個別の構成アミノ酸としてはグリシンが原料 100 g 当たり 59 mg で最も多く、アルギニンが 31 mg でこれに次いでいた。アラニンとタウリンはいずれも 17 mg で、5 番目に多かったリジンが 7 mg であった。つまり今回試作したカニ殻エキスは、二、三のカニ筋肉の文献値^{2,10,11)}で示されているカニ類筋肉の遊離アミノ酸組成と比べても、アルギニンの割合がやや少な目であること、プロリンの代わりにリジンが多いことを除けば、ほぼ同様の組成を持つことを示しているといえる。これに対して生ガニ煮汁に含まれるアミノ酸合計量は、原料が筋肉および内臓を含むカニ全体であるため

に、カニ殻から試作したエキスのその 10 倍近くに達していた。また量的に多いアミノ酸はグリシン、アルギニン、タウリンおよびアラニンで、カニ殻試作品エキス中の遊離アミノ酸組成と大きな違いはなかった。このことは濃縮という過程を加えさえすれば、加工残滓を原料としても十分に商品価値のある調味料素材を調製できる可能性を示唆していると言えよう。一方、同じ表に示した市販カニエキスの場合、個々の遊離アミノ酸を多い順に挙げるとグルタミン酸 (5,555 mg/市販品 100 g、以下同様)、グリシン (3,156 mg)、アラニン (992 mg)、プロリン (417 mg)、セリン (242 mg) となるが、そのなかでもグルタミン酸は合計量の約 50% を占めており、明らかに調味の目的で添加されたことが推定される。なお市販品 100 g 当たりの遊離アミノ酸合計量は 11.4 g という極めて高い値を示したが、これはカニ煮汁から調製したエキスを高度に濃縮し、更に一部の呈味成分については食品添加物の形で加えたペースト状の濃縮製品であるから、当然のことといえる。次にエビ殻エキスを構成する遊離アミノ酸についてみると、グリシン (101 mg/原料 100 g、以下同様) とアラニン (59 mg) が最も多く、両者で合計量の半分以上を占めていた。このほかにプロリン (22 mg)、グルタミン酸 (15 mg) が多い点で、カニ殻エキスとは異なっていた。比較のため分析した市販エビエキスは、同じ Table 1 に示したように、添加物由来と考えられるグルタミン酸の割合が市販カニエキスよりも更に多く、全遊離アミノ酸量の 86% (エキス重量の 14% 相当) にも達していた。これらの市販エキス類は、実際の使用に当たっては水で 50–200 倍に希釈されることが多い。その場合には最終製品中に配合されるグルタミン酸の濃度も 0.3% 以下となり、適正使用濃度であるが、それにしても今回供試した検体はややグルタミン酸偏重の嫌いがあると言えよう。

2) スクレオチド；今回は呈味と関係の深い IMP, GMP および AMP の他、UMP, CMP, ADP, ATP の計 7 種のスクレオチドと、その分解物であるイノシン、ヒポキサンチンを対象として分析したが、IMP, AMP, GMP 以外はほとんど検出されなかった。まず合計量を見ると、Table 2 (上段) に示すようにカニ殻エキス (8 mg/原料 100 g、以下同様) から検出されたスクレオチド類は、カニ煮汁 (27 mg) のおよそ 3 分の 1 程度と微量であった。その内では AMP が 4 mg、IMP と GMP はいずれも 2 mg 程度であった。これに対して生ガニ煮汁では、IMP と AMP のいずれも 11 mg で、両者でスクレオチドの 80% を占めていた。一方、市販カニエキスは IMP (186 mg/市販品 100 g、以下同様) と GMP (118 mg) が中心で、両者で合計量の 95% を占めたが、カニ筋肉の分析値から考えるとこれらの大部分

Table 1. Amino acid composition of crab and shrimp shell extracts, stock, and commercial seasonings. extracts (mg/100 g of raw materials*¹ or products*²)

Amino acid	Crab			Shrimp	
	Shell extract* ¹	Stock* ¹	Seasoning* ²	Shell extract* ¹	Seasoning* ²
Taurine	17	217	115	11	195
Aspartic acid	1	0	123	1	20
Threonine	1	8	106	6	11
Serine	3	21	242	2	17
Glutamic acid	3	34	5555	15	13787
Proline	4	28	417	22	36
Glycine	59	337	3156	101	1644
Alanine	17	154	992	59	59
Citrulline	0	0	5	3	0
Valine	3	34	109	6	13
Methionine	1	0	33	5	0
Isoleucine	1	18	65	2	9
Leucine	2	26	138	4	21
Tyrosine	2	79	0	3	48
Phenylalanine	1	75	46	1	21
β -Alanine	0	2	1	0	1
γ -ABA	0	3	8	0	2
Histidine	1	10	26	2	1
Ethanolamine	1	45	63	5	12
Lysine	7	29	0	11	13
Arginine	31	291	162	11	33
Total	155	1412	11362	273	15943

は、いずれも添加物由来のものと考えられた。エビ殻エキスの AMP (9 mg/原料 100 g) 含有量はカニ殻エキスの約 2 倍で、合計量の 62% に相当したが、IMP と GMP の量はカニ殻エキスの場合と大差なかった。なお市販エビエキスも、市販カニエキスと同じく添加によると思われる IMP (102 mg/市販品 100 g, 以下同様) と GMP (59 mg) が中心で、AMP は僅か 1 mg しか検出されなかった。

3) 有機酸; 分析結果は一括して Table 2 (中段) に示す。カニ殻エキスにはコハク酸 (21 mg/原料 100 g, 以下同様) と乳酸 (19 mg) がほぼ等量分布し、この他に微量のクエン酸、リンゴ酸、酒石酸が検出された。これに対して生ガニ煮汁ではカニ筋肉に由来すると思われる乳酸 (27 mg) が主体で、コハク酸 (10 mg) はカニ殻エキスの半分以下であった。これら 5 種の有機酸の合計量はカニ殻エキスと生ガニ煮汁のいずれの場合でもおよそ 40 mg 前後で、両者の間では大きな違いはなかった。なお市販カニエキスの場合、他の有機酸に比べてコハク酸 (1,287 mg/市販品 100 g) が圧倒的に多く、全有機酸の 70% を占めており、カニ筋肉中の有機酸組

成¹³⁾から考えると、恐らく酸味料として添加されたものと思われた。エビ殻エキスの場合は乳酸 (13 mg/原料 100 g, 以下同様) とコハク酸 (6 mg) が大半を占め、酒石酸を加えても合計量 20 mg と低く、カニ殻エキスの半分程度であった。これに対して市販品のエビエキスは、市販品 100 g 当たり 6 g というきわめて高濃度のコハク酸と、1 g 程度のリンゴ酸を含んでいた。エビ類筋肉エキスの組成^{10,14)}と比較すると、これらの大部分はどちらも酸味料として添加されたものと考えられた。

4) 無機イオン; 分析結果は一括して Table 2 (下段) に示す。カニ殻エキスの無機イオン合計量は原料 100 g 当たり 399 mg で、生ガニ煮汁の約十分の一程度 (3,350 mg) であったが、個別に見るとリン、カリウム、カルシウム、マグネシウムの割合が高く、中でも殻に由来すると思われるカルシウム (44 mg) とマグネシウム (16 mg) の含有量の多さが目立った。市販カニエキスと生ガニ煮汁の無機イオン組成は、ナトリウム、塩素、リンの三種が中心で、いずれもこれらで 90% を占めていた。エビ殻エキス (167 mg/原料 100 g) の場合、無機成分の合計量はカニ殻エキス (399 mg) の半

Table 2. Nucleotides, organic acids, and inorganic ions of crab and shrimp shell extracts, stock, and commercial seasonings. extracts (mg/100 g of raw materials*¹ or products*²)

	Crab			Shrimp	
	Shell extract* ¹	Stock* ¹	Seasoning* ²	Shell extract* ¹	Seasoning* ²
Nucleotides					
IMP	2	11	186	3	102
AMP	4	11	17	9	1
GMP	2	5	118	2	59
Total	8	27	321	14	163
Organic acids					
Citric	2	0	0	0	76
Tartaric	+	0	139	1	123
Malic	+	0	154	0	1097
Succinic	21	10	1287	6	6467
Lactic	19	27	268	13	0
Total	42	37	1848	20	7763
Inorganic ions					
Na	98	1235	16955	30	11651
K	43	162	1706	13	519
Ca	44	5	4578	15	54
Mg	16	2	746	4	19
P	161	927	17015	93	16620
Cl	37	1020	12539	11	11401
Total	399	3350	53538	167	40263

分以下であったが、リンの割合が56%と今回供試した5種の試料のなかでは最も高かった。これを別とすれば、他の成分の割合はカニ殻エキスとはほぼ同じであった。なお市販エビエキスの無機イオン組成ではナトリウム、塩素、リンの3種の存在比が29:42:29で、カニ市販エキス(36:37:27)と比較的良く似たパターンを示していたが、カルシウム、マグネシウムはいずれも0.1%以下と低く、市販カニエキスとは異なる傾向を示した。

官能評価 今回は20-40代のパネル男女3名ずつ計6名を用い、試作品のカニ殻エキスまたはエビ殻エキス(いずれも100°C, 3時間抽出)を基準とし、生カニ煮汁と市販カニエキス、または市販エビエキスの官能的な差異をそれぞれ5点評価法(-2~0~+2点)により評価した。質問項目としては甘味、旨味などの基本味5項目と、においを含めたエキスとしての好ましさを総合評価として回答させた。これら6項目のいずれの場合も、評価点がFig. 2において中央部に示した正六角形(0点)より外側にあれば、基準の試作品エキスよりその項目の評価が高く、内側にあれば低いことを示している。まず、生ガニ煮汁は甘味(0.9点)と塩味(0.8点)がカ

ニ殻エキスより強く、市販カニエキスは甘味(1.0点)と旨味(1.7点)の2項目でカニ殻エキスより高い得点を得た。しかし、匂いを含めた総合評価では、三者の間にそれほど大きな違いはなかった。次に試作エビ殻エキスと市販エビエキスを比べると、後者は配合されたグルタミン酸ナトリウムの影響で旨味(1.9点)が相当に強く、甘味(1.1点)と塩味(1.0点)も僅かに強く感じられた。総合評価では加熱により生じる殻特有の匂いがやや嫌われた結果、市販エキスの方が相対的に高い評価(1.1点)を得たものと思われる。

変異原性 100°Cで3-12時間かけて調製した加工残滓エキスの分析結果をTable 3に示したが、そのうち12時間抽出したエビ殻エキス(-S9)1検体が擬陽性と判定されたことを除けば、カニ殻およびエビ殻から試作したいずれのエキスも、変異原性に関しては陰性と判定され、相当長期に亘って摂取を続けてもヒトの健康に影響を与えるような可能性は全くないということが明らかになった。なおここで擬陽性¹⁵⁾とは、ある試料濃度でプレート上の変異コロニー形成数が対照値の1.5-2倍未満であった場合を指す。

食品加工の残滓として生じたこれら甲殻類の殻は、以

Fig. 2. Sensory evaluation of crab and shrimp shell extracts compared to commercially available crab and shrimp seasonings and a crab stock obtained from a crab processing factory.

Crab shell extract was compared with a commercially available crab seasoning and a crab stock. The reviewer panel was asked to give scores on five primary taste qualities and an overall preference on a 5 point scale (+2; stronger, +1; slightly stronger, 0; equal, -1; slightly weaker, -2; weaker) using the crab shell extract as a control. The shrimp shell extract was also compared to a commercially available shrimp seasoning in the same manner as above. A circle (crab stock) or square (crab seasoning) appearing outside of the outline of each central hexagon indicates that the primary taste quality or overall score of the crab stock or commercially available crab seasoning was stronger than that of the crab shell extract. Those marks appearing inside of the hexagon indicate that the primary taste quality or overall score of commercially available crab seasoning or crab stock was weaker than that of the crab shell extract. The same formulas hold for the comparison between the shrimp shell extract and a commercially available shrimp seasoning.

Table 3. Mutagenicity of shell extracts

Extraction (hrs)	+S9		Extraction (hrs)	-S9	
	Crab	Shrimp		Crab	Shrimp
3	—	—	3	—	—
6	—	—	6	—	—
12	—	—	12	—	±

±; pseudopositive.

—; negative.

前は全く用途の無い廃棄物に過ぎなかったが、キチン¹⁰⁾加工品の保水性の高さや凝集特性、さらには低分子化した水溶性キトサンの様々な生理作用に注目が集まるようになって、近年はそれらの製造原料として需要が急増している。しかしその際には、まず原料のカニ殻やエビ殻の脱脂、除タンパクの工程が不可欠である。採肉後のカニ殻でも細い爪先や、殻の内表面部分などに若干のタンパク成分が残存しており、キチン、キトサンの製造に当たってはこれらはあらかじめ十分な洗浄、ならびに除去が必要である。従って、これらの加工残滓から熱

水抽出エキスを調製することが可能であれば、その操作によってこれらの不要成分の除去にも有用であるので、キチン、キトサン製造にはかえって好都合であるといえる。

本実験で明らかにしたエキス成分組成、および官能評価の結果から考えると、これまで調味料製造原料として全く考えられなかったこれらの加工廃棄物より調製したカニ殻およびエビ殻熱水エキスも、濃縮および若干の配合上の調整を行えば、調味素材として十分に使い得るものと思われた。また化学物質による汚染が進んでいる今日では、可能な限り変異原性物質や発ガン性物質への曝露を抑制することが公衆衛生上の観点から要請されているが、この点でも試作品エキスは全く問題が無く、濃縮工程におけるコストの問題は、スプレードライヤーによる試作を行うなど、更に検討の必要があるが、今後工業的規模での実用化に向けて企業側の取組みが期待される。

謝 辞

本研究は日本学術振興会外国人特別研究員任恵峰と、

その受入れ研究者である林 哲仁が中心になって行ったもので、費用の一部は東和食品研究振興会の学術奨励金によりました。此処に記して深謝します。

文 献

- 1) 越智宏倫：天然調味料の原料「天然調味料」，光琳，東京，1993，pp. 65-75.
- 2) 林 哲仁，任 恵峰，秋葉友明，渡辺悦生：未利用小型カニ類のエキス成分と調味素材としての評価．日本誌，59，865-873 (1993).
- 3) 古川秀子：官能検査の方法および解析法「おいしさを測る」，幸書房，東京，1994，pp. 19-66.
- 4) T. Skopek, H. L. Liber, D. A. Kaden, and W. G. Thilly: Relative sensitivities of forward and reverse mutation assays in *Salmonella typhi-murium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 4465-4469 (1978).
- 5) 高木敬彦，後藤純雄，村田元秀，松下秀鶴，J. Lewtas：空気浮遊粒子の変異原性測定への Micro-forward mutation 法の適用．大気汚染学会誌，23，9-19 (1988).
- 6) T. Hayashi, H. Ren, S. Goto, H. Endo, and E. Watanabe: Detection of mutagenicity in some oriental natural seasonings by forward mutation assay. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 16-24 (1996).
- 7) 任 恵峰，林 哲仁，後藤純雄，遠藤英明，渡辺悦生：ドライソーセージ変異原性に対する加工工程と添加香辛料の影響．食衛誌，37，301-307 (1996).
- 8) 任 恵峰，林 哲仁，大久保忠利，後藤純雄，渡辺悦生：ヒスチジンを含む水産エキス試料に適した変異原性試験法の検討．日本誌，63 90-96 (1997).
- 9) 波多野博行：酸加水分解時のアミノ酸の破壊「アミノ酸自動分析法」，化学同人，京都，1964，pp. 69-71.
- 10) S. Fuke and S. Konosu: Taste-active components in some food: A review of Japanese research. *Physiol. Behavior*, 49, 863-868 (1991).
- 11) S. Konosu, K. Yamaguchi, and T. Hayashi: Studies on flavor components in boiled crabs-1. Amino acids and related compounds in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 44, 505-510 (1978).
- 12) T. Hayashi, K. Yamaguchi, and S. Konosu: Studies on flavor components in boiled crabs-2, Nucleotides and organic bases in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 44 1357-1362 (1978).
- 13) T. Hayashi, A. Asakawa, K. Yamaguchi, and S. Konosu: Studies on flavor components in boiled crabs-3, Sugars, organic acids, and minerals in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 45 1325-1329 (1979).
- 14) 浅川明彦，山口勝巳，鴻巣章二：ホッコクアカエビの呈味成分，日食工誌，28，594-599 (1981).
- 15) 菊池康基，三宅幸雄：細菌を用いる復帰突然変異試験「変異原性試験 Q & A」，サイエンティスト社，東京，1995，pp. 24-26.
- 16) 木船弘爾：海洋新素材「マリンバイオテクノロジー」(嵯峨直恒・松永 是編)，裳華房，東京，1991，pp. 230-235.