

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	山 崎 歌 織
題 目	味噌漬によるカツオ肉の保存延長および食味保持の効果に関する研究 (Studies on the Effect of Prolonged Preservation and Taste Retention of Skipjack Meat by Curing in Miso)
<p>カツオ肉の味噌漬は、保存性と品質改善に効果的な方法である。カツオ肉を5℃で味噌漬保存し、30日まで保存期間毎のカツオ肉の重量、食塩濃度および水分活性値の変化、一般生菌数および低温細菌数の変動を調べ、官能検査による最適味噌漬保存期間を検討した。さらに、品質保持を図るため凍結保存を試み、カツオ肉の筋肉組織観察およびテクスチャー測定、官能検査により凍結保存の有効性を判定した。カツオ肉は味噌漬直後から食塩が急速に浸透し、重量の減少がみられた。3日以降食塩濃度は平衡状態となり、重量は増加に転じた。これらの変化の後に水分活性値も減少し、10日以降の変化は些少となった。30日間の保存中味噌漬カツオ肉に一般生菌数および低温細菌の増殖は認められなかった。また、官能検査の結果総合的に好まれたのは10日の味噌漬カツオ肉であった。次に10日間味噌漬後味噌を除去して7日間-20℃で凍結保存を試みた。光学顕微鏡による筋肉組織観察の結果、味噌漬後凍結カツオ肉は味噌漬カツオ肉と同様の構造が保持されていた。テクスチャー測定の結果も凍結による差はほとんど無かった。また、官能検査においても味噌漬カツオ肉と味噌漬後凍結カツオ肉との間に総合的な好ましさにおいて有意差は認められなかった。これらの結果から、10日間味噌漬後味噌を除去しカツオ肉を凍結保存することは、更に保存期間の延長に効果的であることが明らかとなった。</p> <p>さらに、味噌漬カツオ肉と漬味噌におけるタンパク質成分、プロテアーゼ活性および遊離アミノ酸の変動について検討した。タンパク質成分の変動をSDS-PAGEにより解析した結果、味噌漬カツオ肉には分解されやすいタンパク質、また味噌へ溶出しやすいタンパク質があることが判明した。漬味噌および味噌漬カツオ肉のプロテアーゼ活性と阻害効果を調べたところ、味噌にはアスパラギン酸プロテアーゼとセリンプロテアーゼが含まれていることが示唆された。無処理カツオ肉にはプロテアーゼ活性はほとんど検出されなかった。しかし、興味あることにはカツオ肉を味噌漬することによりpH7におけるプロテアーゼ活性が検出された。このプロテアーゼは味噌漬期間10日間で最大活性を示し、セリンプロテアーゼの阻害剤であるAEBSFで阻害された。また、多くの種類の遊離アミノ酸量は味噌漬期間に伴い、味噌から味噌漬カツオ肉へ移行することが明らかになった。</p> <p>味噌から味噌漬カツオ肉へ成分が移行することを応用し、味噌漬カツオ肉の栄養面からの機能性を高めるため、カツオに少ない水溶性ビタミンB1、B2、Cおよびカルシウムを添加した味噌でカツオ肉を漬込むことを試みた。添加した栄養素は味噌漬カツオ肉に移行することが明らかになった。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名 Kaori Yamazaki

題 目 Studies on the Effect of Prolonged Preservation and
Taste Retention of Skipjack Meat by Curing in Miso
(味噌漬によるカツオ肉の保存延長および食味保持の効果に関する研究)

Curing skipjack meat in miso (called misodzuke-skipjack) is an effective method for preserving and improving the quality. Changes in the salt concentration and water activity value in skipjack meat were examined at different times during curing in miso. The numbers of general bacteria and psychrophilic bacteria in the skipjack meat and miso used for curing were counted at different times during the curing period. The curing time for obtaining the most appropriate texture was determined. The prolonged preservation time and muscle condition of the cured skipjack were investigated by optical microscopy and a sensory test. Misodzuke-skipjack cured for 10 days was evaluated to have the best condition from the parameters applied in the sensory test. There was no detectable increase in the numbers of general and psychrophilic bacteria during 30 days of curing. To investigate further prolongation of the storage period, the miso was removed from the misodzuke-skipjack for 10 days, and the skipjack meat was frozen for 7 days at -20°C . The muscle of the frozen skipjack meat was then subjected to optical microscopy in comparison with the muscle of the misodzuke-skipjack for 10 days. The structure of the frozen muscle was preserved as well as the muscle of the misodzuke-skipjack. There were no notable differences in various aspects of the taste between the frozen and unfrozen misodzuke-skipjack. These results demonstrate that frozen storage after removing the miso from the misodzuke-skipjack for 10 days was effective for prolonging the preservation time.

Also, the changes in protein, protease activity and free amino acid contents were examined on the misodzuke-skipjack and miso respectively. The degradation of several proteins in the misodzuke-skipjack and the elution of some proteins from misodzuke-skipjack into the miso were observed by SDS-PAGE. It was also found that aspartic protease and serine protease were present in miso by measuring the protease activity and the effect of protein inhibitors. Although protease activity was not detected in skipjack meat that had not been cured in miso, protease activity at optimal pH 7 was detected in misodzuke-skipjack. Misodzuke-skipjack cured for 10 days demonstrated a maximum protease activity which was inhibited by the serine protease inhibitor, AEBSF. Most of the free amino acid contents in misodzuke-skipjack increased during the curing period.

Thus, it was found that the functional elements in miso transfer into misodzuke-skipjack. Using this finding, we preliminarily examined to elevate the function of misodzuke-skipjack as food. Namely, calcium, the vitamins B1, B2 and C, low contents in skipjack, were added into the miso, and the skipjack meat were cured in the miso supplemented with such nutrient substances. This result showed that the supplemented substances transfer into the misodzuke-skipjack.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	山崎 歌織
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 田中 淑人
	副査 鹿児島大学 教授 坂田 泰造
	副査 鹿児島大学 教授 青木 孝良
	副査 佐賀大学 教授 藤田 修二
	副査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
審査協力者	
題目	味噌漬によるカツオ肉の保存延長および食味保持の効果に関する研究 (Studies on the Effect of Prolonged Preservation and Taste Retention of Skipjack Meat by Curing in Miso)
<p>カツオは魚類の中でも鮮度低下の速い魚種である。そのため、生での利用は刺身やタタキなどに限られている。また加工品として鰹節が主流でその他は、加熱後に味噌、醤油等の調味料で保存性を高めている。</p> <p>本論文は、保存延長を目的として、生カツオ肉を味噌漬し更に凍結保存する方法を考案し、その品質と食味を官能検査により確認すると同時に、その要因を一般的品質要因（水分活性、食塩濃度、一般生菌・低温細菌数、テクスチャー、K値、VBN）、遊離アミノ酸の移行、タンパク質の低分子化とプロテアーゼ活性、筋肉組織観察等の点からの解明を試みている。更に、味噌漬による物質移行を利用したの機能性物質添加により、栄養価の向上を図っている。</p> <p>「味噌漬過程における品質要因の変化と評価」：カツオ肉を5℃、30日間味噌漬保存し、一般的品質要因、タンパク質変化とプロテアーゼ活性、遊離アミノ酸の移行等を調べた。カツオ肉における変化は、味噌漬直後から食塩濃度の急激な上昇と、それに伴う重量の減少が見られ、3日以降食塩濃度は平衡に達し、その後水分活性の減少が認められた。10日以降のこの3項目の結果は30日まで変化はわずかで</p>	

あり、味噌漬効果は10日でほぼ到達していると思われた。一般生菌・低温細菌の増殖は30日間保存中に認められず、カツオ肉の保存期間を30日まで延長できた。官能検査においては味噌漬10日が最も評価が高かった。

「タンパク質の低分子化とプロテアーゼ活性」：味噌漬過程におけるタンパク質の変動をSDS-PAGE分析により味噌漬カツオ肉および漬味噌（3日、10日、20日）につき無処理カツオ肉と比較した。無処理カツオ肉に検出された約500～700kDaの高分子タンパク質成分が味噌漬期間中、少しずつ分解され、また約200kDaと約60kDaのタンパク質成分は20日間でほとんど分解された。この結果は味噌漬中、特定のタンパク質成分が選択的に分解されタンパク質の低分子化が起こっていると思われた。低分子化の起因となるプロテアーゼを調べて見ると味噌にはアスパラギン酸プロテアーゼとセリンプロテアーゼが含まれていることが示唆された。無処理カツオ肉ではプロテアーゼ活性が検出されなかったが、味噌漬後、セリンプロテアーゼと思われる活性が見られた。

「アミノ酸の移行」：食味の一要因である遊離アミノ酸の移行について調べた。多くの種類のアミノ酸が味噌漬に伴い味噌から味噌漬カツオ肉に移行していた。特徴的なものは、呈味成分の一つであるL-Gluが味噌からカツオ肉に多量移行し、逆にカツオ肉の特徴的アミノ酸であるL-Hisがカツオ肉より味噌に移行していた。また食品衛生上問題となるヒスタミンは無視できる程度しか検出されなかった。

「味噌漬後冷凍過程における変化と評価」：組織学的観察において味噌漬後の凍結処理カツオ肉の筋肉組織が、味噌漬と同様に破損されていないことが観察され、また、タンパク質パターンにおいてもテクスチャー特性の3項目（硬さ、凝集性および付着性）においても差異がなかった。官能検査での評価も同等であった。これらの結果から味噌漬後味噌を除去し、カツオ肉を冷凍保存することは、更に保存期間を延長するのに効果的であることが明らかになった。

「機能性物質強化」：味噌漬による味噌よりカツオ肉へのアミノ酸移行現象を利用して、ビタミンB₁、B₂、C及びCa等を強化できることを確認し、味噌漬による栄養価値の向上を図れる可能性を示唆している。

以上のように本研究は生カツオの味噌漬と凍結という処理方法で、品質・食味を延長する方法を考案し、その要因を生化学的、物性測定手法等により解明したものであり、水産食品加工・保蔵学、調理学の観点からも意義あるものであり、学位論文として十分に価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	山崎 歌織
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 田中 淑人
	副査 鹿児島大学 教授 坂田 泰造
	副査 鹿児島大学 教授 青木 孝良
	副査 佐賀大学 教授 藤田 修二
	副査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
審査協力者	
実施年月日	平成 21年 1月 13日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査は、平成21年1月13日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（水産学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者	山崎 歌織
氏 名	

「質問 1」味噌には酸性プロテアーゼ及び中性プロテアーゼが存在し、中性プロテアーゼはカツオ肉中に移行するが、酸性プロテアーゼが移行しないのはなぜか。

「回答 1」実験より、カツオ肉味噌漬の場合タンパク質により漬味噌とカツオ肉間で移行しやすいものとそうでないものがあったので、pH 3 で活性の高いプロテアーゼは移行しなかったと思われる。プロテアーゼ自体がカツオ肉に移行したのか、味噌の成分により活性化されたのか定かではない。従って、現時点では移行したかどうかは分からない。

「質問 2」味噌漬 10 日目においてプロテアーゼ活性は強いが、SDS-PAGE によるカツオ肉の 10 日目のタンパク質の分解が少ない理由は何か。

「回答 2」プロテアーゼ活性は 10 日目で最も高くなりその後減少している。この活性が徐々に作用して 20 日目までに分解が進んでいったためと考えている。

「質問 3」筋肉組織観察の図の見方を詳しく説明して欲しい。

「回答 3」骨格筋の横断面の細胞を調べた。凍結無処理カツオ肉の染色の薄い（白い）部分は、自由水が凍結して氷結晶ができた痕跡であると考えている。今回は、 -20°C での緩慢凍結であったため、氷結晶が成長し形跡として残ったと考えられる。凍結試料は解凍後に切片を作製し顕微鏡で観察した。

「質問 4」味噌漬したものは筋肉組織が変化していないように見える。味噌の効果と思うが、味噌中の何の関係しているのか。NaCl か。

「回答 4」味噌漬カツオ肉と味噌漬後凍結したカツオ肉とは類似した細胞形態を示しているため、味噌漬によって NaCl が浸透し脱水された状態が保持されていると考えられる。即ち、カツオ肉中の自由水の一部が脱水され、氷結晶を生成しにくかったと考えられる。

「質問 5」味噌使用による、費用はどうか。

「回答 5」味噌は、約 400 円/kg である。今回は、カツオ肉と同量の味噌を使用した。産業的に成立するかは、今後の課題である。

「質問 6」一般細菌・低温細菌について調べているが、好塩性細菌について調べているか。

「回答 6」今回は調べていない。食品衛生上の問題とすると、他の品質項目で保存性においては問題ないと考えた。

「質問 7」味噌におけるプロテアーゼ活性において、pH 7 と pH 3 の活性は同一の酵素のものか。また、カツオ肉のプロテアーゼ活性は、味噌由来のものか。

「回答 7」味噌におけるプロテアーゼ活性は、pH 7 及び pH 3 での阻害剤効果の結果から、異なるものであると考えている。カツオ肉のプロテアーゼ活性の由来は、現時点では不明である。

「質問 8」電気泳動の結果で、味噌にはタンパク質のバンドが出ていないが、タンパク質は含まれていないのか。

「回答 8」味噌は大豆を原料としているのでタンパク質は含まれているが、本方法では漬込み前の味噌のバンドは検出されなかった。米味噌を使用した場合も同様にバンドは検出されなかった。

「質問 9」味噌漬カツオ肉の水分活性が減っているが重量は増えているのはなぜか。

「回答 9」味噌に直接カツオ肉を漬込んでおり、一度脱水した水分が味噌とカツオ肉の間で平衡状態になったためカツオ肉が元の重量に近づいたと考えている。また、重量と水分活性は別々に変動し、水分活性が減ったから必ずしもそれに比例して重量が減る訳ではない。

「質問 10」味噌漬カツオ肉の水分活性は 0.95 だが、細菌の抑制としては少し高い気がする。適当な水分活性と考えるか。

「回答 10」水分活性 0.95 で一般細菌・低温細菌の増殖は十分に抑えられていたため適当であると考ええる。水分活性が下がるのは自由水の減少であるので、カツオ肉のパスツキ等の美味しさにも関わってくる。

「質問 11」味噌漬のとき、テクスチャーは 10 日目が良い。この時、硬さが良いのはどのように考えたら良いか。食塩との関係では一致していないが。

「回答 11」味噌漬初期の段階では、食塩の浸透に伴いカツオ肉は脱水して硬くなり、10 日目最も硬くなった。魚種によって、最も硬くなるのは 7 日目であるなど異なっている。その点から、単に食塩だけの影響ではなくタンパク質の性質の違いや割合等が複合的に関係しているのではないかと考える。

「質問 12」魚の油脂は酸化しやすく、味噌の中には抗酸化能を持つ成分があるが、油脂の酸化については調べていないのか。カツオ肉の保存中の風味の変化はあまり気にならないのか。

「回答 12」今回は、油脂の酸化については調べていない。しかし、官能検査においては脂質によるカツオ肉の風味への影響はほとんどなかった。以前、ブリを用い味噌の種類による脂質酸化抑制について調べているが、着色度の高い味噌ほど脂質酸化防止効果があり、味噌漬による効果は得られている。

「質問 13」残った味噌は生臭くないのか。

「回答 13」やはり、カツオの生臭さは移ってしまう。今後、ショウガやニンニクの添加を考えているので、漬味噌の改良も検討したい。

「質問 14」テクスチャーの一項目である付着性とは、どのようなものか。

「回答 14」付着性とは、ネバネバやベトベトといった物質が互いにくっつく粘着特性である。調理科学ではテクスチャー用語として用いられている。