

博士（水産学） サラ イザベル  
ポンセ デ レオン バルディビア

学位論文題名

Studies for Preservation of Sardine in Brine  
(マイワシのブライン保藏に関する研究)

学位論文内容の要旨

イワシ類、サバおよびサンマなど多獲性赤身魚類は、他の魚類よりも腐敗しやすい性質を持っている。このような欠点を克服することは、イワシ類のように、極めて栄養価に富んだ動物性タンパク質の有効利用という面に貢献するところが大きいと考えられる。特に栄養不足が大きな問題となっている地域の国々では漁船に冷却設備が完備していないため漁獲後の鮮度低下が著しく、食用として利用できる状態で魚体を陸揚げすることは重要な意味を持っている。これらの地域では、特別な冷却装置を必要としない別の鮮度保持法の開発が期待されている。

そこで本研究では、マイワシ (*Sardinops melanostictus*) を供試魚とし、魚類の保藏法として古くから知られている塩蔵法のうちの立塩法(ブライン法)を応用して実験を進めた。第一章では異なるブライン濃度で浸漬した供試魚の保藏限界および有機酸との併用効果について検討した。第二章ではブラインに代わる海水利用の可能性について調べ、第三章ではさらに保藏期間を延長するために安息香酸ナトリウムの併用について検討した。保藏期間中における化学的鮮度測定値 (K値、VB-N量およびpH)、官能評価および生菌数に基づいて供試魚の保藏効果を検討し、同時に細菌相の変遷からも腐敗抑制の効果を調べた。

まず第一章においては、本研究を進めるうえで基本的な事項である、魚量とブライン(食塩水溶液)量との比率を1:1と決めたうえで、この

ブライン法によるマイワシの保藏効果を評価した。保藏温度は前述のように冷却が十分に行われないことを想定した15℃とし、比較対照として0℃についても行った。ブライン濃度は4、10および15%の3種類とした。その結果、当然の帰結ではあるが保藏温度が高く（15℃）、ブラインの食塩濃度が低い供試魚ほど、鮮度の低下が大きかった。化学的検査および官能的観察結果から0℃保藏の場合にはすべての供試魚が実験期間を通じ摂食可能であったが、15℃保藏では15%ブラインに浸漬した供試魚が5日間の可食期間を保ち最大であった。

次にブライン中の細菌の変動を検討した結果、生菌数については、15℃保藏の4、10および15%のブラインではそれぞれ3、5および7日目で約 $10^6$  CFU/mlに達した。一方0℃保藏では15℃保藏の場合と比較して増殖速度は遅く、特に15%ブライン中ではほとんど発育が認められなかった。さらに分離菌株を同定して保藏期間中における菌相の変動についても観察を行った。全分離菌株は669株で、これらは12属に分類され、その大部分は*Pseudomonas* 属を始めとするグラム陰性桿菌であった。また、グラム陽性菌は255株分離されたが、*Micrococcus* 属は148株で、陽性菌の中で約60%を占めたことは注目される。この同定結果から菌相変遷を検討したが、すべてのブライン中で優勢菌属として*Pseudomonas* 属と*Moraxella* 属が認められたが、低温（0℃）では食塩濃度が高まるとともに*Pseudomonas* 属の比率が高まり、高温（15℃）では*Moraxella* 属の割合が高まる傾向がみられた。

15℃、15%ブライン保藏の場合では摂食可能な最大保藏期間が5日間であることを認めたが、このようなブラインの高濃度条件下では、魚肉中の食塩濃度が約4%になるので生食用あるいは加工用には、これより低濃度ブライン中での摂食可能期間の延長を検討する必要がある。この点を改良するために、ブライン中に有機酸（酢酸あるいはクエン酸）を添加する方法を検討した。先ず前述したブライン保藏で優勢と認められた菌属の代表株として*Pseudomonas* sp. と*Moraxella* sp. の二株を用いて、それらの発育とVB-Nの産生状態から効果的な酸の種類とその有効濃度を

調べた。その結果0.05%濃度の酢酸が最も効果的であることがわかった。そこで4、10および15%の各ブラインに0.05%濃度となるように酢酸を添加し、15℃でのマイワシの摂食可能な保藏期間を調べたところ、4%では5日間、10および15%では7日間であった。このように前述した酢酸無添加の実験結果(15℃)と比較して、それぞれ3日、4日、および2日以上保藏期間を延長することができた。さらに、それらのブライン中における菌相の変動を観察した結果、酢酸添加4%ブライン中ではグラム陰性菌の占める割合がほぼ100%となり、その中でも*Pseudomonas* 属および*Moraxella* 属が優勢であった。この傾向は、酢酸無添加ブライン中での結果と同様であったが、このような菌相を形成するまでに要する日数は無添加の場合に比較して2日遅れた。一方、酢酸を添加した10および15%ブライン中ではグラム陽性菌が増加した。特に15%ブライン中においては7日目で95%を占めるに至り、*Micrococcus* 属が主要菌属であった。また酢酸添加条件下では食塩濃度が高まるにつれて、グラム陽性菌群よりもグラム陰性菌群の酢酸に対する感受性が強くなることが明らかとなった。これが供試魚の保藏に対して酢酸が有効性を示す理由の一つであることが推察された。

第二章では4%ブラインとほぼ同程度の塩分量を含む海水が、第一章で得られた4%ブライン中と同程度あるいはそれ以上の保藏効果を示すかどうかについていろいろな条件下で検討した。酢酸添加海水や活性炭素処理海水による*Pseudomonas* sp. (第一章で使用した菌株)に対する*in vitro* の実験では発育抑制効果を認めたが、実際に魚を用いた0.05%酢酸添加海水ブラインでは4%ブラインのみの場合と同様の結果で、酢酸併用の有効性は認められなかった。このような結果が得られたのは、海水中に有機物等が含まれていることに起因しているためと考えた。

第三章では数種類の保存料について、ブラインとの併用効果を検討した。その中で安息香酸ナトリウムが最も良い効果を示したので、4%ブラインにこの保存料を加えた場合の供試魚の保藏状態を詳しく調べた。安息香酸ナトリウムの添加量が0.3%で、pHを酢酸を用いて5に調整した時

(約0.0015%) が最適条件で、この条件下では摂食可能期間は6日間に達した。この時のブライン中のVB-N量は、4%ブラインのみを用いた場合や0.05%酢酸添加4%ブラインを用いた場合よりも少なく、両者に比較して保蔵期間をそれぞれ4日および1日延長できた。官能検査結果もこれとよく一致した。

安息香酸ナトリウムを添加したブライン中の細菌の発育は、第一章で述べた4%ブラインおよび0.05%酢酸添加4%ブライン中の結果と比べて特に抑制効果はみられなかつたが、菌相の変動が小さいという違いが認められた。菌相を見るとグラム陰性菌の中では *Pseudomonas* 属と *Moraxella* 属が、またグラム陽性菌中では *Micrococcus* 属が優勢で、前述の二種類のブライン中と同様であった。4%ブラインの3日目および0.05%酢酸添加4%ブラインの7日目に見られたグラム陽性菌の割合はそれぞれ3%および5%と低かったのに対して、安息香酸ナトリウムを添加したブラインの7日目では約30%と高かった。したがつて、菌相中に腐敗活性の弱いグラム陽性菌の占める比率の大きいことが、VB-N量を抑えていることに寄与していることが分かる。また、*Moraxella* spp. (1444および1445) では安息香酸ナトリウムの存在によって発育は抑制されないが、腐敗活性が抑制されることが認められた。これらのことから安息香酸ナトリウムの併用効果はグラム陽性菌の占める割合の大きい菌相を形成することおよび細菌の発育に対してよりも、細菌の腐敗活性に顕著に影響を与えていることにあると推察された。

この安息香酸ナトリウム併用ブライン保蔵法は15°Cにおいても低濃度ブライン中で魚の鮮度低下を抑制しながら一定期間保蔵できる可能性を示唆するものであり、冷却設備がない漁船においても漁獲後の魚の鮮度を保った状態で陸揚げできることを意味しており、そのような問題のある地域で応用でき、食生活の改善に貢献できるものと考えている。

# 学位論文審査の要旨

主査 教授 信濃 晴雄  
副査 教授 絵面 良男  
副査 教授 猪上 徳雄

## 学位論文題名

### Studies for Preservation of Sardine in Brine (マイワシのブライン保藏に関する研究)

多獲性赤身魚類には、脂肪成分として高度不飽和酸が多く鮮度の早期劣化要因の一つとなっている。また一方ではこれらの脂肪の中にEPAあるいはDHAなど、生体の健康維持に有効な成分も多く、このような魚類の有効利用は食糧の絶対的不足に悩む諸国にとって重要な課題である。

申請者は上記の点を考慮し、動物性タンパク質の不足する諸国では冷凍設備の完備していない漁船が大部分である現実を踏まえて、比較的高温(15°C)で経済的(立塩法)な鮮度保持法を駆使しながら、種々の条件下におけるマイワシの保藏性を、生菌数、菌相、種々の化学的鮮度指標ならびに官能検査などと関連させて論じている。

第一章においては、魚量とブライン(食塩水溶液)量との比率を1:1として、マイワシの浸漬保藏効果を評価している。保藏温度を15°C、0°C(対照)、ブライン濃度は4、10および15%とし、これらの条件下で保藏実験を行っているが温度が高く(15°C)、食塩濃度が低いほど、鮮度低下が大きいとしている。また、0°C保藏の場合には全ての供試魚が摂食可能で、15°C保藏では15%ブライン浸漬した供試魚が5日間の可食期間を保持することを示した。

ブライン中の菌相変動では、全てのブライン中で *Pseudomonas* 属

と *Moraxella* 属が認められたが、低温では食塩濃度が高まるとともに *Pseudomonas* 属の比率が、高温では *Moraxella* 属の割合が高まる傾向を観察している。

次に、低濃度ブラインに浸漬した供試魚の摂食可能期間の延長を計るために鮮度保持に対する有機酸の影響を検討している。*Pseudomonas* sp. と *Moraxella* sp. の二株を用いて、発育と VB-N を基に酸の種類とその有効濃度を調べ、0.05% 濃度の酢酸が最も効果的であることを認めていた。そこで各塩濃度のブラインに同濃度に酢酸を添加し、15°Cでのマイワシの摂食可能期間を調べたところ、4% では5日間であることを示した。また菌相変動は、酢酸添加4% ブライン中ではグラム陰性菌が5日目でほぼ100% となり、*Pseudomonas* 属および *Moraxella* 属が優位になることを明らかにした。このような菌相を形成するまでに要する日数は無添加の場合よりも2日遅れ、酢酸添加条件下では食塩濃度が高まるにつれて、グラム陽性菌群よりもグラム陰性菌群の酢酸に対する感受性が強くなることを示し、供試魚の保藏には酢酸が有効である結果を得ている。

第二章では4% ブラインと同程度の塩分量を含む海水の供試魚に対する保藏効果を種々な条件下で検討している。酢酸添加海水および活性炭素処理海水の *Pseudomonas* sp. に対する *in vitro* の実験では発育抑制効果を認めたが、0.05% 酢酸添加ブラインでは酢酸併用の有効性はなく、この結果は、海水中の有機物あるいは豊富なミネラルによるものとしている。

第三章では保存料の併用効果を検討しているが、0.3% の割に安息香酸ナトリウムを添加し、酢酸で pH 5 に調製した4% ブラインの保藏効果が最も実際的で、その場合の摂食期間が6日間であることを観察している。ブライン中の細菌の発育抑制効果は、認められなかつたが、菌相の変動が緩慢なことを認めていた。菌相はグラム陰性菌の中では *Pseudomonas* 属と *Moraxella* 属が、グラム陽性菌中では *Micrococcus* 属が優勢なことを示した。また、グラム陽性菌は安息香

酸ナトリウム添加ブラインの6日目でも菌相中の約40%を占め、菌相中に腐敗活性の弱いグラム陽性球菌の占める割合の大きいことが、腐敗抑制に寄与することを示している。また、*Moraxella sp.*では発育は抑制されないが、腐敗活性が低下することから安息香酸ナトリウムはグラム陽性球菌の占める割合の大きい菌相の形成および細菌の発育よりも、腐敗活性に影響を与えるものと推察している。

本論文で得られた主な成果を記すと以下の通りである。

- 1) 1:1 (W/V)の比率で4%食塩水(4%ブライン)に供試魚を浸漬し15°Cで保存した場合には、魚体の生菌数は3日目で $10^6$  CFU/gに達し、菌相はグラム陰性桿菌の割合が高く、中でも腐敗細菌の一つとして知られる*Moraxella*属が優勢となり官能検査および他の鮮度指標から導かれた可食期間(1~2日)を反映した結果となった。
- 2) 上記の系(4%ブライン、15°C)に、単価が安く、解離恒数が小さくて抗菌性の強い酢酸を添加した場合、菌相については代表的腐敗細菌としての*Pseudomonas*および*Moraxella*属が優勢になるまでの時間が延長され、保藏期間も5日間と大幅に延長されることを認めた。
- 3) 漁場から陸揚げまでの期間(約7日間)を考慮して供試魚肉中に大量に含まれるTMAO(trimethylamine oxide)の還元阻害剤である安息香酸ナトリウム(0.3%)を添加し、6~7日間の保藏期間を得た。この結果は保藏中における細菌相で優勢と認めた4種の細菌に対する腐敗活性の抑制効果からも実験的に証明された。

これらの結果は安息香酸併用ブライン保藏法が15°Cにおいても、低食塩濃度で一定期間鮮度保持が可能であることを示唆し、保藏学上、新しい指針を与えるものと審査員一同は評価し、本論文が博士(水産学)の学位論文に相当するものと判断した。