

長期熟成魚介類刺身の呈味成分およびテクスチャー

南 駿介,¹ 高取宗茂,^{2,3} 白山 洸,⁴
沖田歩樹,¹ 中村柚咲,¹ 高橋希元^{1*}

(2020年3月11日受付, 2020年6月23日受理, 2020年8月28日J-STAGE 早期公開)

¹東京海洋大学食品生産科学科, ²不二楼, ³和僑ホールディングス, ⁴熟成鮪 万

Taste components and texture of long-term aged fish and shellfish sashimi

SHUNSUKE MINAMI,¹ MUNESHIGE TAKATORI,^{2,3} AKIRA SHIRAYAMA,⁴
AYUKI OKITA,¹ YUSA NAKAMURA¹ AND KIGEN TAKAHASHI^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, ²Fujiro, Chuo, Tokyo 103-0025, ³Wakyo Holdings, Chuo, Tokyo 103-0025, ⁴Jukusei-sushi Yorozu, Shibuya, Tokyo 150-0011, Japan

Nowadays, some sushi restaurants utilize long-term aged fish and shellfish sashimi as a foodstuff, as it is believed to have a unique texture and rich umami taste. However, changes in the quality of fish and shellfish sashimi during long-term aging remain unclear. In this study, taste components and texture of long-term aged fish and shellfish sashimi were evaluated for comparison with those of conventional sashimi. Greater amberjack *Seriola dumerili*, oval squid *Sepioteuthis lessoniana*, marlin *Kajikia audax*, and white trevally *Pseudocaranx dentex* were used as sashimi materials. These samples were aged at 1°C for 13 to 31 days, respectively. All the sashimi samples before and after aging were obtained from sushi restaurants. Inosine 5' monophosphate (IMP) content, firmness, moisture content, and expressible drip decreased in the long-term aged sashimi samples, and conversely their free amino acid contents increased. K values of these samples were 46.7–76.5%, and protein degradation was observed in SDS-PAGE. These results indicate that long-term aged fish and shellfish sashimi have different taste components and texture from those of the conventional sashimi that emphasizes freshness, and thus can be utilized as a new aquatic food product.

キーワード：イノシン酸, 刺身, 熟成魚, テクスチャー, 遊離アミノ酸

近年, 約1週間から最大1か月以上もの長い期間熟成させた魚肉刺身を熟成魚と呼び, うま味が強まる等, 呈味性が良好で付加価値が高いとして寿司店をはじめとした外食産業において注目を集めている。¹⁾

これまで魚介肉を生食する場合には, 鮮度の良いものが好ましいとされ,²⁾ 水産食品においても水揚げ後の品質保持が重要な研究課題であった。魚介類の品質には様々な要因があるが, 生食を行う刺身においてはうま味成分であるイノシン酸 (IMP) (イカやエビなどの無脊椎動物ではアデニル酸 [AMP]) を多く含むことや適度な歯ごたえ (硬さ) を有することが重要であるとされてきた。^{3,4)} 一方で, 魚介類の品質は水揚げ後に迅速に低下す

ることが知られており, カンパチ *Seriola dumerili* およびマダイ *Pagrus major* では氷蔵において IMP 含量が死後 0–1 日でピークに達し, その後減少することが明らかとなっている。⁵⁾ またバナメイエビ *Penaeus vannamei* においては AMP 含量が死後 10 時間でピークとなり, その後減少したと報告されている。⁶⁾ 歯ごたえについてもティラピア *Oreochromis niloticus* の破断強度が死後 6 時間で最大となり, その後急速に軟化することが報告されている。⁷⁾ これら報告のように従来の研究では, 魚介類において冷蔵保存で生食用の品質を長期間維持するのは困難とされてきた。

熟成は長期間保蔵することで, 品質を向上させること

を指し,⁸⁾ 生食用魚介類研究における短期間で品質劣化するという従来の知見とは大きく矛盾する。また、品質向上を目的とした長期熟成は牛肉を中心とした畜肉では加熱用食品としての利用を目的に研究報告がなされているが,^{9,10)} 生食用魚介肉に関する研究は見当たらない。加えて寿司店においては、強いうま味などの特徴を強調するために、単純な冷蔵ではなく経験に基づいた様々な熟成処理が魚肉に施されているが、それらの影響は明らかとなっていない。¹⁾

世界の1人当たり水産物消費量は過去半世紀で2倍以上に増加し、今後もこの傾向は継続することが見込まれる。¹¹⁾ 我が国の水産物輸出量は2012年度から2018年度の期間に439,707トンから749,791トンと大きく増加した。¹¹⁾ 刺身や寿司が低カロリーで健康的であるとされ、近年世界中で人気となっていることから、生鮮魚介類は水産物における主要な輸出品目である。¹²⁾ 一方で、海外への輸出時には、国内以上に輸送時間を要するため、新たな魚介類の品質劣化防止技術の開発が強く望まれている。¹³⁾ したがって、輸送時の所要時間を熟成に置き換えることが出来れば、熟成魚介類を輸出適性の高い新たな水産食品として利用できる可能性があるものと考えた。

加えて、我が国の漁業・養殖業生産量は、1984年の1282万トンをピークに減少が続いており、2017年には431万トンまで落ち込んでいる。¹¹⁾ そのため、限りある水産物の有効利用が強く求められており、熟成により魚介類の食品としての利用期間が延長可能となれば、本問題の解決に寄与しうる可能性がある。

以上の理由により、将来的に熟成魚介類を新たな水産食品として広く利用するため、本研究では実際に寿司店で提供されている熟成魚介類を分析し、それらの呈味成分およびテクスチャーについて検討した。

材料と方法

材料 実験は2019年5-7月にかけて行ない、いずれの材料も、実際に寿司種として使用されている熟成前後の魚介類を、寿司店より切り身状態で購入した。カンパチ *Seriola dumerili* (養殖、鹿児島県産)、アオリイカ *Septoteuthis lessonian* (佐賀県産)、マカジキ *Kajikia audax* (千葉県産) およびシマアジ *Pseudocaranx dentex* (高知県産) を材料とし、カンパチ、マカジキおよびシマアジは背側普通筋肉、アオリイカは外套筋を測定に用いた。

熟成工程 熟成は、通常寿司店が用いている方法により行われた。カンパチ(約9.8 kg)は頭、内臓および尾を除去した後、フィレーとし、食品用ホタテ貝殻由来除菌剤(シェルバイタルクリーン、サンケイグローバル株式会社)で試料表面を拭いた。その後、試料を調理用

ペーパー(クリーンハーツ キッチンペーパー、西原商会製)で包み、さらにラップで包んだ状態で、1℃の冷蔵庫(YRC-150RE2-F、福島工業株式会社製)内で13日間熟成した。なお調理用ペーパーおよびラップは毎日交換した。アオリイカ(約1.6 kg)は外套筋を試料として用い、カンパチと同様に熟成させた。

マカジキは約2.0 kgの背側筋肉ブロックを調理用ペーパーで包み、1℃で10日間熟成した。なお、調理用ペーパーは毎日取り替えた。その後、試料を約100 gのNaClで覆い、再度1℃で10日間熟成した。表面を2-5 cm程度トリミングし、中心部を調理用ペーパーで包み、これらを毎日取り替えながら、さらに1℃で11日間熟成させ、試料とした。

シマアジ(約2.0 kg)は頭、内臓および尾を除去しフィレーとし、調理用ペーパーで包み、これを毎日取り替えながら1℃で10日間熟成した。その後、残っていた骨および皮を取り除き、約100 gのNaClで30分間試料を覆った後、NaClを水道水で洗い流した。表面を拭いた後、試料を調理用ペーパーで包み、これを取り替えながら3℃で7日間熟成した。さらに表面を1 cm程度トリミングし、調理用ペーパーで包み、これを毎日取り替えながら1℃で7日間熟成した。

水分含量測定 試料1 gを105℃で恒量になるまで乾燥させ、乾燥前後の重量から水分含量を算出した。

pH測定 試料1 gに対し10倍量(w/v)のイオン交換水を加えホモジナイズした後、pHメーター(pH 700, Eutech Instruments製)を用いて測定した。

塩濃度測定 上記pH分析後の試料液を4℃、8000×gで10分間遠心分離し、デジタル塩分計(PAL-SALT, 株式会社アタゴ製)を用いて塩濃度を測定した。

なお熟成前試料に0-3.0%のNaClを添加し、モール法と塩分計により予備実験を行った。得られた検量線に基づき、塩分計を用いた本実験結果の誤差を修正した。

ATP関連化合物含量分析 ATP関連化合物含量の分析はLia *et al.*¹⁴⁾の方法を参考にして行った。遠心管中の試料3 gに冷10%過塩素酸6 mLを加え、アルミナボールで破碎後、4℃、8000×gで10分間遠心分離した。その後、沈殿物に冷5%過塩素酸6 mLを加え混合した後、遠心分離を行った。この操作を3回繰り返した。遠心分離で得られた上清を混合し、2 M KOHでpH 6.4±0.1に調整した。pH調整した試料をろ過し、ろ液をイオン交換水で50 mLに定容した。定容した試料は分析まで-70℃で冷凍保存した。ATP関連化合物含量の測定は、高速液体クロマトグラフィー(LC-10AD, 株式会社島津製作所製)を用い、カラムはシリカC18M 4D(4.6 mm×150 mm, 昭和電工株式会社製)、カラム温度は35℃、流速は0.8 mL/minとした。移動相は1000 mLの0.13 M トリエチルアミン-0.13

M リン酸溶液 (pH 6.8) に対して, アセトニトリル 10 mL を加えた混液を用いた。また ATP 関連化合物含量から K 値を計算した。¹⁵⁾

遊離アミノ酸分析 遊離アミノ酸含量の測定は Geng *et al.*¹⁶⁾ の方法を参考とした。試料 3 g に冷 5% トリクロロ酢酸 6 mL を加え, アルミナボールで破碎後, 4°C, 8000 × g で 10 分間遠心分離した。その後, 沈殿物に冷 5% トリクロロ酢酸 6 mL を加え, 遠心分離を行った。この操作を 3 回繰り返した。遠心分離で得られた全ての上清を混合した後にろ過し, ろ液をイオン交換水で 50 mL に定容した。その後, 試料は -30°C で冷凍保存した。アミノ酸の分析は, アミノ酸分析システム (LC-20AD, 株式会社島津製作所製) を用い, カラムは Shim-pack Amino-Li (100 mm × 6.0 mm, 株式会社島津製作所製), カラム温度は 39.0°C とした。プレカラムは Shim-pack ISC-30/S0504 Li (50 mm × 4.0 mm, 株式会社島津製作所製) を用いた。蛍光検出器は RF-10AXL (励起波長 350 nm, 蛍光波長 450 nm, 株式会社島津製作所製) を用い, OPA 法により分析を行った。

押し込み試験 押し込み試験は Casas *et al.*¹⁷⁾ の方法を参考にし, FUDOH レオメーター (RTC-3002D, 株式会社レオテック製) を用いて行った。押し込み試料は厚さ 2 cm, 底面 9 cm² (3 cm × 3 cm) の直方体となるようにカットした。プランジャーは直径 5 mm の円盤プランジャーを用い, 押し込み速度を 1 mm/sec として, 歪率 30% まで押し込んだときの最大押し込み荷重を測定した。

圧搾ドリップ率測定 圧搾ドリップ率の測定は Songsaeng *et al.*¹⁸⁾ の方法を参考とした。試料を 2.0 cm × 2.0 cm × 1.0 cm にカットし, これを上下からろ紙 (5A, 株式会社アドバンテック製) で挟み, FUDOH レオメーター (RTC-3002D, 株式会社レオテック製) で直径 40 mm の円盤プランジャーを用い, 2 分間 20 N 荷重し, 圧搾前後の重量から圧搾ドリップ率を算出した。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) SDS-PAGE は Laemmli *et al.*¹⁹⁾ および Ashie *et al.*²⁰⁾ の方法に準じ行った。試料 0.25 g に対し, 2% 2-メルカ

プトエタノール-2% SDS-8 M 尿素-20 mM Tris-HCl (pH 8.8) を 10 mL 加え, 1 晩振盪することでタンパク質を溶解させた。この溶液を遠心分離し (20°C, 10,000 × g, 20 分間), 上澄みを SDS-PAGE の試料とした。電気泳動には市販の 5-20% 濃度勾配ポリアクリルアミドゲル (e-PAGEL, アトー株式会社製), およびタンパク質分子量マーカーとして PageRuler Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific 社製) を用いた。ゲルの染色は 0.025% CBB R-250-50% メタノール-10% 酢酸溶液で 1 時間行い, その後 30% メタノール-10% 酢酸溶液でタンパク質のバンドが明瞭になるまで脱色した。

統計処理 全ての実験は 3 回以上繰り返し, 結果はスチューデントの *t* 検定により有意差検定を行った (*p* < 0.05)。

結 果

水分含量, pH および塩濃度 各試料の水分含量, pH および塩濃度を Table 1 に示した。熟成前後での水分含量はカンパチで 77.6 ± 0.6% から 73.2 ± 0.2%, アオリイカで 77.9 ± 0.1 から 76.1 ± 0.0%, マカジキで 72.6 ± 0.0% から 67.4 ± 0.0%, およびシマアジで 67.7 ± 0.3% から 66.8 ± 0.0% と全ての試料において有意に減少した (*p* < 0.05)。一方で, pH は全ての試料において熟成前後での明らかな変化は見られなかった。塩濃度はカンパチおよびアオリイカでは変化がなかったが, マカジキは 0.2 ± 0.0% から 1.7 ± 0.1%, シマアジは 0.1 ± 0.0% から 1.5 ± 0.1% と有意に増加した (*p* < 0.05)。

IMP および遊離アミノ酸含量 各試料の IMP 含量の結果を Fig. 1 に示した。なお海産無脊椎動物は AMP デアミナーゼ活性が低く IMP を蓄積しないとされていることから,²¹⁾ アオリイカについては, Kani *et al.*²²⁾ がその呈味性に強い影響を持つと報告している AMP 含量を示した。IMP または AMP 含量はカンパチで 9.4 ± 1.3 μmol/g から 6.0 ± 0.8 μmol/g, アオリイカで 3.9 ± 0.9 μmol/g から 1.7 ± 0.2 μmol/g, マカジキで 9.9 ± 0.8 μmol/g から 5.0 ± 0.4 μmol/g, およびシマアジで 6.1 ± 0.8 μmol/g から 3.1 ± 0.3 μmol/g と全ての試料で熟成に

Table 1 Moisture content, pH and salt content of fish and shellfish before and after aging

	Moisture content [%]		pH		Salt content [%]	
	Before	After	Before	After	Before	After
Greater amberjack	77.6 ± 0.6	73.2 ± 0.2*	5.8 ± 0.0	5.9 ± 0.0*	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
Oval squid	77.9 ± 0.1	76.1 ± 0.0*	7.1 ± 0.0	7.0 ± 0.0*	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Marlin	72.6 ± 0.0	67.4 ± 0.0*	5.7 ± 0.1	5.7 ± 0.1	0.2 ± 0.0	1.7 ± 0.1*
White trevally	67.7 ± 0.3	66.8 ± 0.0*	6.2 ± 0.0	6.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	1.5 ± 0.1*

Date are shown as mean ± standard deviation (*n* = 3-4).

* Statistical difference (*p* < 0.05).

Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

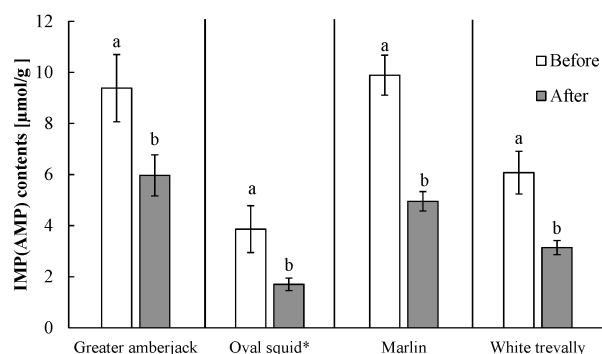


Fig. 1 Inosine 5' monophosphate (IMP) content of fish and shellfish before and after aging. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different superscripts indicate statistical differences ($p<0.05$). *, Adenosine monophosphate (AMP) content. Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

より減少した ($p<0.05$)。

Table 2 に遊離アミノ酸の分析結果を示した。魚肉 100 g あたりの総遊離アミノ酸含量はカンパチで 265.2 ± 10.6 mg から 364.8 ± 36.3 mg ($p<0.05$)、アオリイカで 1315.5 ± 126.0 mg から 1916.4 ± 84.4 mg ($p<0.05$)、マカジキで 555.3 ± 161.5 mg から 744.5 ± 39.2 mg、およびシマアジで 775.7 ± 49.8 mg から 813.4 ± 17.1 mg ($p<0.05$) といずれの試料でも熟成後に増加する傾向を示した。

IMP と同じくうま味を呈する遊離アミノ酸（グルタミン酸およびアスパラギン酸）の含量については、カンパチで 7.7 ± 1.0 mg から 11.3 ± 1.2 mg、アオリイカで 14.5 ± 1.9 mg から 94.2 ± 4.4 mg、マカジキで 7.1 ± 1.5 mg から 17.8 ± 0.8 mg、およびシマアジで 18.8 ± 2.9 mg から 25.6 ± 2.3 mg と全ての魚介種において熟成により有意に増加した ($p<0.05$, Fig. 2)。また甘味を呈するセリンおよびスレオニンが全ての試料で増加し ($p<0.05$)、カンパチ、アオリイカおよびマカジキにおいては同様に甘味を呈するアラニンも増加した ($p<0.05$)。

K 値 いずれの魚介種においても熟成後に K 値が有意に増加し ($p<0.05$)、カンパチで $8.5 \pm 0.3\%$ から $46.7 \pm 0.6\%$ 、アオリイカで $55.5 \pm 1.2\%$ から $76.5 \pm 1.2\%$ 、マカジキで $21.1 \pm 0.4\%$ から $58.7 \pm 0.8\%$ 、およびシマアジで $5.4 \pm 0.2\%$ から $52.3 \pm 0.6\%$ を示した (Fig. 3)。

テクスチャー 最大押し込み荷重の結果を Fig. 4 に示した。カンパチは 2.6 ± 0.1 N から 1.8 ± 0.2 N、マカジキは 2.5 ± 0.1 N から 1.8 ± 0.2 N と熟成によって押し込み荷重が有意に低下した ($p<0.05$)。一方で、アオ

リイカおよびシマアジでは熟成による明らかな変化は観察されなかった。

また圧搾ドリップ率の結果を Table 3 に示した。熟成により圧搾ドリップ率はカンパチで $4.0 \pm 0.2\%$ から $3.5 \pm 0.2\%$ 、アオリイカで 1.3 ± 0.0 から $1.2 \pm 0.0\%$ 、マカジキで $3.9 \pm 0.3\%$ から $1.2 \pm 0.1\%$ 、およびシマアジで $2.5 \pm 0.2\%$ から $2.0 \pm 0.1\%$ と全ての試料において有意に減少した ($p<0.05$)。

SDS-PAGE 各試料の SDS-PAGE パターンを Fig. 5 に示した。カンパチおよびマカジキの熟成後試料ではミオシン重鎖 (MHC) の分解物と考えられる分子量 12 万付近のバンド (Fig. 5, α) が強くなっており、^{23,24)} タンパク質の分解が示唆された。またアオリイカについては熟成後にコネクチンまたはネブリンと考えられる分子量 20 万以上のタンパク質 (Fig. 5, β) の消失が確認された。²⁵⁾ シマアジについては分子量 3 万から 4 万付近にタンパク質分解物 (Fig. 5, γ) の増加が観察された。

考 察

呈味成分変化 熟成による品質変化を評価するため、魚介類刺身の主要なうま味成分とされている IMP 含量 (アオリイカについては AMP 含量) について検討した。その結果、本研究で分析に用いた全ての試料において IMP もしくは AMP 含量が熟成後に大きく減少したことが明らかとなった。これまで生食用を中心とした魚介類研究においては、IMP もしくは AMP 含量の増加によりうま味が増し、呈味性向上が期待できるとされてきた。^{26,27)} 一方で、これら ATP 関連化合物の含量は種によって異なるものの、概ね漁獲もしくは即殺後数時間から 3 日程度で最大化し、その後減少することが知られている。^{28,29)} したがって、IMP もしくは AMP 含量の最大化を基本としたうま味の観点からの魚介肉の生食最適期間は、上記期間に準ずると考えられる。しかし本研究結果は、これまでの鮮度の良い状態での生食を目的とする魚介類研究における知見とは異なり、長期熟成を行った場合には IMP もしくは AMP 含量の最大化が必ずしも重要ではない可能性を示唆した。

次に、遊離アミノ酸含量の熟成前後における変化を検討した。総遊離アミノ酸含量は、全ての試料で増加の傾向を示した。またうま味と甘味に關与する遊離アミノ酸の含量が、全ての試料において有意に増加していた ($p<0.05$)。遊離アミノ酸は食品の呈味性に影響するとされているが、生食に用いられるクロマグロ *Thunnus orientalis*、ハマチ *Seriola quinqueradiata* およびニジマス *Oncorhynchus mykiss* の筋肉において、冷蔵保存中には遊離アミノ酸の変化が乏しいことが報告されるなど、^{28,30,31)} これまで生食用魚介類の呈味成分研究では IMP など ATP 関連化合物含量の増減が重視され、遊離

Table 2 Free amino acid contents of fish and shellfish before and after aging [mg/100 g meat]

	Greater amberjack		Oval squid	
	Before	After	Before	After
Aspartic acid	0.1±0.0	0.2±0.1	3.2±1.1	16.7±2.8*
Threonine	5.9±0.2	9.0±1.0*	4.7±0.3	25.6±1.5*
Serine	5.0±0.7	8.2±0.4*	5.9±0.5	37.2±3.4*
Glutamic acid	7.6±1.0	11.2±1.1*	11.4±1.2	77.6±1.6*
Glutamine	7.5±1.1	7.5±1.5	0.8±0.8	21.6±1.5*
Proline	11.8±2.1	14.0±1.4	262.9±21.5	214.4±17.7*
Glycine	20.5±0.7	21.2±2.4	246.7±24.3	272.3±16.9
Alanine	47.4±2.7	60.7±6.4*	119.8±7.9	224.1±54.3*
Valine	5.0±0.8	7.8±2.0	7.1±4.3	33.1±4.6*
Cystine	0.2±0.2	0.1±0.0	1.9±2.5	0.6±0.1
Methionine	0.2±0.2	3.8±1.1*	2.3±0.8	18.1±2.0*
Isoleucine	1.4±0.3	4.1±0.9*	3.6±1.4	23.7±2.5*
Leucine	4.5±0.3	10.7±1.5*	3.3±1.8	104.4±124.0
Tyrosine	2.7±1.2	6.6±0.9*	4.4±0.2	17.4±2.3*
Phenylalanine	2.8±0.2	6.1±0.5*	2.3±0.6	18.3±3.3*
Histidine	80.9±2.3	101.3±16.1	2.7±0.1	12.6±0.3*
Lysine	51.7±3.7	73.8±9.5*	9.1±0.5	41.5±2.2*
Arginine	9.5±0.8	18.2±3.4*	622.6±71.2	755.2±126.8
Total	265.2±10.6	364.8±36.3*	1315.5±126.0	1916.4±84.4*

	Marlin		White trevally	
	Before	After	Before	After
Aspartic acid	0.2±0.0	0.2±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1
Threonine	3.7±2.0	9.2±0.4*	4.2±1.2	7.2±0.4*
Serine	6.5±0.8	10.4±0.8*	3.3±0.9	7.6±0.3*
Glutamic acid	6.9±1.6	17.6±0.8*	18.8±2.9	25.5±2.3*
Glutamine	1.1±0.5	3.1±0.9*	0.8±0.8	2.7±0.3*
Proline	5.6±1.1	7.9±0.2*	1.0±0.4	2.7±1.1*
Glycine	17.9±1.3	22.4±1.3*	6.9±0.9	8.4±0.8
Alanine	22.6±3.5	39.1±5.0*	3.1±1.6	4.9±1.7
Valine	2.5±1.5	6.7±0.6*	1.7±0.5	7.7±0.9*
Cystine	0.1±0.1	0.0±0.0	0.2±0.2	0.0±0.0
Methionine	0.9±1.3	5.1±0.2*	1.1±0.9	1.2±0.5
Isoleucine	2.2±1.7	4.9±0.6*	2.0±1.4	3.8±1.0
Leucine	5.0±4.8	13.8±1.6*	2.5±2.5	12.3±1.6*
Tyrosine	4.9±3.8	9.0±1.6	0.2±0.3	1.3±0.7*
Phenylalanine	2.6±1.7	6.5±0.5*	2.1±0.5	7.4±0.8*
Histidine	457.3±136.2	573.3±32.9	708.0±46.8	694.7±16.7
Lysine	10.5±1.4	8.7±0.6	14.8±1.6	17.3±0.7*
Arginine	3.8±1.6	5.9±1.2	3.5±0.7	6.7±1.6*
Total	555.3±161.5	744.5±39.2	775.7±49.8	813.4±17.1*

Data are shown as mean±standard deviation ($n=4$).

* Statistical difference ($p<0.05$).

Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

アミノ酸含量の変化には注目されてこなかった。一方で、水産加工品では遊離アミノ酸の増加は品質向上につながることは知られており、³⁾ Je *et al.*³²⁾は魚醤油の呈味性にグルタミン酸やアラニンなどの遊離アミノ酸含量が

影響を与えると示唆している。また Itou *et al.*³³⁾はマサバ *Scomber japonicus* へしこにおいて、遊離アミノ酸含量の増加によって呈味性が強まることを報告している。

加えて IMP および AMP はグルタミン酸との相互作用

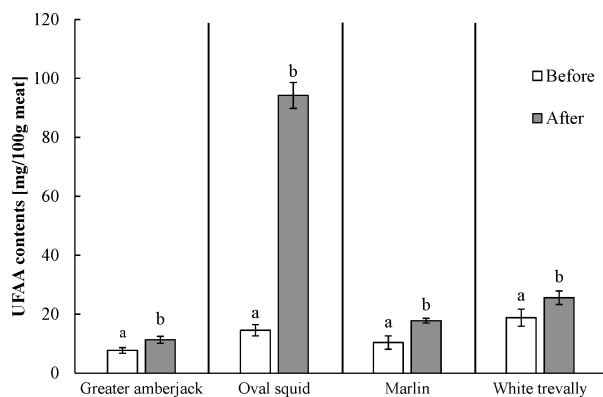


Fig. 2 Umami free amino acid (UFAA) contents of fish and shellfish before and after aging. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different superscripts indicate statistical differences ($p<0.05$). Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

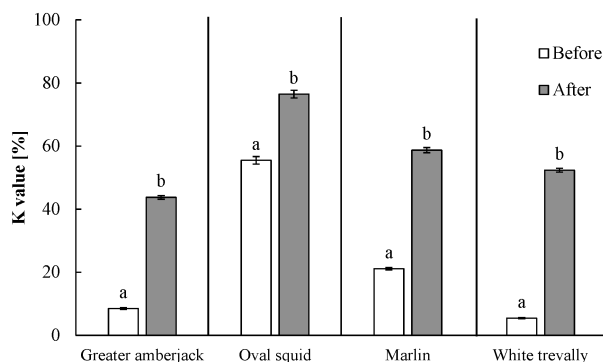


Fig. 3 K value of fish and shellfish before and after aging. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different superscripts indicate statistical differences ($p<0.05$). Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

用によって、うま味の増強が起こることも知られている。^{34,35)} さらに本研究ではNaClを用いた塩熟成において、試料の塩濃度が1.5–1.7%を示した。塩を使用した熟成魚介類は、生食用として、実際に寿司店で提供されている。¹⁾ 日本食品標準成分表に依れば、「塩さば」や「はんぺん」の食塩相当量が本研究結果と同程度であることから、³⁶⁾ これらの値は官能的に適切な範囲であると推察された。NaClを主とした塩の添加はIMPやグルタミン酸などのうま味成分の呈味性を促進することが知られており、³⁷⁾ 本研究でも熟成試料の呈味性に影響を及ぼしている可能性が考えられた。以上より、本研究の結果は、熟成魚介類刺身のうま味に関連する呈味成分とし

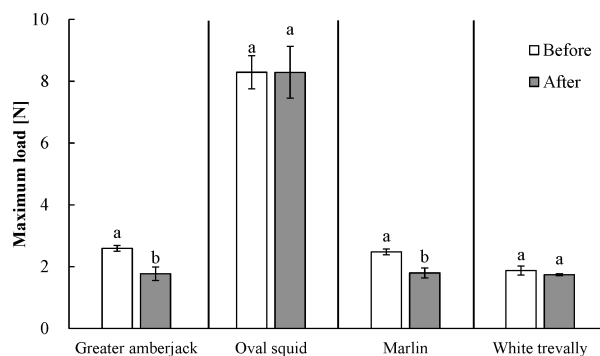


Fig. 4 Maximum load of fish and shellfish before and after aging. Bars represent standard deviation ($n=4$). Different superscripts indicate statistical differences ($p<0.05$). Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

Table 3 Expressible drip of fish and shellfish before and after aging

	Expressible drip [%]	
	Before	After
Greater amberjack	4.0 ± 0.2	3.5 ± 0.2*
Oval squid	1.3 ± 0.0	1.2 ± 0.0*
Marlin	3.9 ± 0.3	1.2 ± 0.1*
White trevally	2.5 ± 0.2	2.0 ± 0.1*

Date are shown as mean ± standard deviation ($n=4$).

* Statistical difference ($p<0.05$).

Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

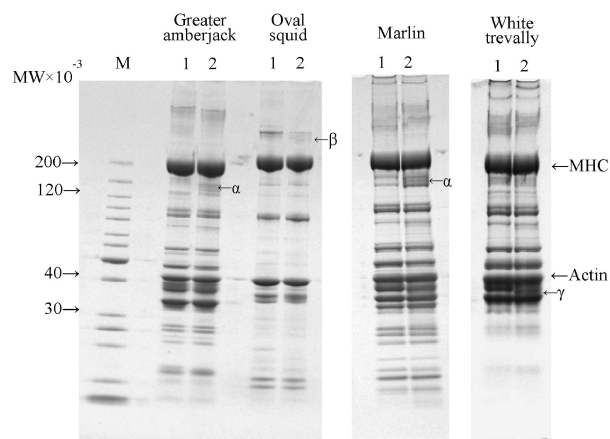


Fig. 5 SDS-PAGE pattern of fish and shellfish before and after aging. M, marker; 1, before aging; 2, after aging. α , β , and γ indicate protein degradation. Greater amberjack and oval squid were aged for 13 days. Marlin and white trevally were aged for 31 days and 24 days, respectively.

ては遊離アミノ酸含量の影響が大きく, IMP および AMP 含量が主に議論されてきたこれまでの知見とは異なるものであることを示唆した。

本研究では SDS-PAGE 分析の結果より, 全ての試料において熟成によるタンパク質分解が確認された。He *et al.*³⁸⁾ はマンジュウダイ *Ephippus orbis* 魚肉にプロテアーゼを噴霧することでタンパク質分解させ, 遊離アミノ酸を多く産生することによって, 呈味性が向上したと報告している。また, イワシ類稚仔魚やヒラメ *Paralichthys olivaceus* において内在性プロテアーゼによって筋肉タンパク質の分解が起こり, 遊離アミノ酸が増加したことが報告されている。^{39,40)} したがって, 熟成による魚介類刺身の遊離アミノ酸の増加はタンパク質分解に由来するものと考えられた。

鮮度変化 従来, K 値は魚肉を中心とした魚介類の鮮度指標として広く用いられてきた。⁴¹⁾ 一般に魚肉を刺身として生食する場合には K 値 20% 以下が適切とされており,⁴²⁾ Wu *et al.*²⁹⁾ は K 値 20% のヒラメ肉が官能的な問題から消費に不適であったことを報告している。しかしながら, 本研究では全ての熟成魚介類試料において K 値は 20% を大きく超えており, これまでの生食基準とは全く異なるものであった。

K 値は ATP がその関連化合物に変化した際の割合をもとに計算されるが, 特に IMP の分解に重点を置いた指標となっている。その計算式においては, IMP が分解することにより K 値が上昇し, 魚肉の鮮度低下と見なされる。これは IMP 含量の最大化が, 生食用鮮魚の品質において重要視される既存の知見とも一致する。一方で, ATP 関連化合物の一連の反応経路は主に酵素が触媒するものであることから, K 値の上昇は食品衛生的な微生物由来の腐敗とは直接には関連しない。^{43,44)} またエビやイカなどの筋肉においては, 以前より K 値を鮮度指標として使用するのが難しいことが指摘されている。⁴⁵⁾ したがって本研究結果は, IMP 含量の最大化を目的としない長期熟成においては, 現在魚介類の生食用鮮度指標として広く普及している K 値が, その品質指標として適さない可能性を強く示唆するものであった。

物性変化 SDS-PAGE の結果では, 最大押し込み荷重の低下が見られたカンパチおよびマカジキのみ MHC の分解が生じていた。Godiksen *et al.*⁴⁶⁾ はニジマス *Oncorhynchus mykiss* 筋肉のテクスチャー変化に MHC が関与することを報告しており, 本研究でも同様に MHC 分解がカンパチおよびマカジキ試料の軟化に影響したものと考えられた。

これまで魚介類刺身の品質においては硬さが重要視されてきた。そのため水産物の鮮度研究では, 主に保存期間に伴う魚介肉の軟化を抑制し, 硬いテクスチャーを維持することを目的とした研究が行われてきた。⁴⁾ 例えば

Ando *et al.*⁴⁷⁾ はブリ *Seriola quinqueradiata*, マアジ *Trachurus japonicus* およびシマアジ *Pseudocaranx dentex* において血抜きをすることによって冷蔵保存中の魚肉軟化が抑制されたと報告している。また Tamotsu *et al.*⁴⁸⁾ はゴマサバ *Scomber australasicus* を漁獲後 3 日間畜養することで畜養していないものと比較して, 筋肉の硬さが維持されたとしている。一方で, 熟成魚介肉では, 上述のような硬さなどの歯ごたえの良さを重視しておらず, その特徴には柔らかさやねっとり感があるとされており,¹⁾ 本研究結果も柔らかさについてはカンパチおよびシマアジで同様の傾向を示した。熟成に NaCl を用いる事で, 塩溶性である筋原線維タンパク質が溶解しテクスチャー変化が生じることも予想されたが,⁴⁹⁾ 本研究結果からは, NaCl 使用の有無による影響は明らかではなかった。

魚介肉のテクスチャー変化と呈味性の強弱に関する研究は極めて少ないが, テクスチャーは食品の呈味性に大きく関与することが知られている。多糖類を中心としたゲル状食品では広く研究が行われており, 柔らかいゲルのほうが咀嚼時におけるスクロースなどの水溶性成分の放出が多く, 甘味強度などの呈味性が強まることが指摘されている。⁵⁰⁾ したがって, 熟成魚介類刺身は硬さが重要とされた従来の魚介類刺身とは異なり, その柔らかさが呈味性に影響をおよぼしている可能性が考えられた。一方で, 本研究ではアオリイカとシマアジでは最大押し込み荷重の低下が観察されなかった。また熟成魚介類テクスチャーのもう 1 つの特徴であるねっとり感については, 押し込み試験での評価が困難であると考えられることから, 今後さらにテクスチャー分析の方法を検討する必要があるものと推察された。

魚介類の熟成では脱水が重要とされ, より効率的に水分を除去するため, 乾燥やペーパー処理などが行われている。¹⁾ 本研究においても, ペーパーおよび NaCl を用いた熟成方法により, 試料中の水分含量が減少し, 脱水効果が確認された。また圧搾ドリップ率の減少は, 水分含量の低下に伴い生じたと考えられた。呈味成分の多くは親水性であり, 咀嚼中に唾液に溶出することで味覚受容体に作用し, 呈味を生じる。^{51,52)} また Lee *et al.*⁵³⁾ は, 牛肉の熟成において, 乾燥によって水分含量が 5% 程度低下し, 呈味成分の濃縮が起こることを報告している。したがって, 水分含量の低下は, IMP や遊離アミノ酸などの呈味成分の濃縮を生じ, 呈味性に影響する可能性があると考えられた。

本研究の結果から, 熟成魚介類は従来の鮮度を重視した生食用魚介類における IMP 含量最大化や硬さの維持といった知見とは大きく異なり, 遊離アミノ酸含量の増加や柔らかさ, および水分含量の低下などこれまでになく特徴を有しており, 新たな水産食品として利用できる

可能性が示唆された。また熟成期間が最大1か月以上におよぶことから、広く普及可能とする技術を確認することで、今後我が国の水産業において重要性が増すことが確実である水産物の有効利用や、海外輸出への貢献が期待できるものと考えられた。

一方で、これまでの生食用魚介類の品質指標として使用されてきたK値20%以下という基準は熟成魚介類には当てはまらないため、新たな品質指標および基準を検討する必要性が強く示唆された。加えて、熟成により生じる微生物増殖やヒスタミン含量の増加など、食中毒を引き起こす可能性のある要因についても詳しく検討する必要がある。現状では職人の勘により、魚介肉表面をトリミングする等で対応していることから、その技術を広く利用できる状況にはなく、安易な長期熟成は大きなリスクを伴うため推奨できない。

以上の通り、今後、長期熟成を水産食品製造の新たな技術として普及させるためには、食品加工や食品衛生など様々な面で解決すべき重要な課題が山積しており、我々のチームとしても諸問題解決のため、積極的に研究を遂行する所存である。

文 献

- 1) 新版 すしの雑誌 第17集. 旭屋出版, 東京. 2018.
- 2) Olafsdottir G, Martinsdottir E, Oehlenschläger J, Dalgaard P, Jensen B, Undeland I, Mackie IM, Henehan G, Nielsen J, Nilsen H. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Sci. Technol.* 1997; **8**: 258-265.
- 3) 村田裕子. 魚介類のエキス成分と味. 「魚介の科学」(阿部宏喜編) 朝倉書店, 東京. 2015; 68-78.
- 4) Oka H, Ohno K, Ninomiya J. Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1990; **56**: 1673-1678 (in Japanese with English abstract).
- 5) Ahimbisibwe JB, Inoue K, Shibata T, Aoki T. Effect of bleeding on the quality of amberjack *Seriola dumerili* and red sea bream *Pagrus major* muscle tissues during iced storage. *Fish. Sci.* 2010; **76**: 389-394.
- 6) Koyama N, Matsukawa M, Shimada M, Sato R. The change of ATP and its related compounds of the *Penaeus vannamei* muscle and effect of the sense of taste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2008; **74**: 1068-1074 (in Japanese with English abstract).
- 7) Toyohara H, Shimizu Y. Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of the muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1988; **54**: 1795-1798 (in Japanese with English abstract).
- 8) 石谷孝佑. 熟成とは. 「食品と熟成」(石谷孝佑編) 光琳, 東京. 2009; 1-19.
- 9) Koohmaraie M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 1994; **36**: 93-104.
- 10) Nishimura T, Ra RM, Okitani A, Kato H. Components contributing to the improvement of meat taste during storage. *Agric. Biol. Chem.* 1988; **52**: 2323-2330.
- 11) 平成30年度水産白書. 水産庁, 東京. 2019.
- 12) Murata Y. Sashimi and sushi products. In: Ryder J, Ababouch L, Balaban M. *Second International Congress on Seafood Technology on Sustainable, Innovative and Healthy Seafood*. FAO/The University of Alaska, Anchorage. 2010; 109-115.
- 13) 農林水産物・食品輸出の手引き (平成28年度改訂版). 農林水産省食料産業局輸出促進課, 東京. 2016.
- 14) Lia D, Qina N, Zhanga L, Lva J, Lia Q, Luo Y. Effects of different concentrations of metal ions on degradation of adenosine triphosphate in common carp (*Cyprinus carpio*) fillets stored at 4 degrees C: An *in vivo* study. *Food Chem.* 2016; **211**: 812-818.
- 15) Saitou T, Arai K, Matsuyoshi M. A new method for estimating the freshness of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1959; **24**: 749-750.
- 16) Geng JT, Takahashi K, Kaido T, Kasukawa M, Okazaki E, Osako K. The effect of organic salts on the browning of dried squid products processed by air-drying. *Food Chem.* 2018; **269**: 212-219.
- 17) Casas C, Martinez O, Guillen MD, Pin C, Salmeron J. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. *Food Control.* 2006; **17**: 511-515.
- 18) Songsaeng S, Sophanodora P, Kaewsrithong J, Ohshima T. Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant. *Food Chem.* 2010; **123**: 286-290.
- 19) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; **15**: 680-685.
- 20) Ashie INA, Lanier TC. High pressure effects on gelation of surimi and turkey breast muscle enhanced by microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 1999; **64**: 704-708.
- 21) 新井健一. 海産無脊椎動物筋肉中のスクレオチド. 日本水産学会誌 1966; **32**: 174-179.
- 22) Kani Y, Yoshikawa N, Okada S, Abe H. Taste-active components in the mantle muscle of the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* and their effects on squid taste. *Food Res. Int.* 2008; **41**: 371-379.
- 23) Yongsawatdigul J, Park JW. Effects of alkali and acid solubilization on gelation characteristics of rockfish muscle proteins. *J. Food Sci.* 2004; **69**: 499-505.
- 24) Choi YJ, Park JW. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J. Food Sci.* 2002; **67**: 2962-2967.
- 25) Tsuchiya H, Kita S, Seki N. Postmortem changes in α -actinin and connectin in carp and rainbow trout muscles. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992; **58**: 793-798 (in Japanese with English abstract).
- 26) 坂口守彦, 佐藤健司. 魚介類のおいしさの秘密. 化学と生物 1998; **36**: 504-509.
- 27) Konosu S. Taste of fish and shellfish with special Reference to taste-producing substances. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 1973; **20**: 432-439. (in Japanese).
- 28) Murata M, Ando M, Sakaguchi M. Freshness and palatability of fish meat. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 1995; **42**: 462-468 (in Japanese).
- 29) Wu Y, Zhang J, Shi J, Ebitani K, Konno K. Biphasic IMP decomposition during the storage of flounder muscle at low temperature. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2016; **82**: 342-348 (in Japanese with English abstract).
- 30) 木村 郷, 竹内 萌, 松原 久. 氷冷保管中のクロマグロ鮮度に及ぼす快眠処理の影響. 青森県産業技術センター食品総合研究所研究報告 2015; **5**: 1-6.

- 31) 新井 肇, 松原利光, 西塔正孝, 内田直行, 鈴木平光. ニジマスの鮮度に及ぼす低温流通の効果. 群馬県水産試験場研究報告 2011; **17**: 16–24.
- 32) Je JY, Park, PJ, Jung WK, Kim SK. Amino acid changes in fermented oyster (*Crassostrea gigas*) sauce with different fermentation periods. *Food Chem.* 2005; **91**: 15–18.
- 33) Itou K, Akahane Y. Changes in proximate composition and extractive components of rice-bran-fermented mackerel *Heshiko* during processing. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2000; **66**: 1051–1058 (in Japanese with English abstract).
- 34) Yamaguchi S. The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. *J. Food Sci.* 1967; **32**: 473–478.
- 35) Yamaguchi S, Ninomiya K. Umami and food palatability. *J. Nutr.* 2000; **130**: 921S–926S.
- 36) 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂). 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会.
- 37) 栗原堅三. 世界に広がるうま味の魅力〈総説特集Ⅱ〉食べ物のおいしさを引き出すうま味とコクを考える—3. 日本味と匂学会誌 2012; **19**: 177–188.
- 38) He H, Chen X, Li J, Zhang Y, Gao P. Taste improvement of refrigerated meat treated with cold-adapted protease. *Food Chem.* 2004; **84**: 307–311.
- 39) Tamotsu S, Fujita S, Ogata Y, Kimura I. Postmortem autolysis of juvenile sardines during cold storage. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2018; **84**: 103–110 (in Japanese with English abstract).
- 40) Xu Y, Li T, Zhang C, Li X, Yi S, Li J, Sun X. Protein degradation of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) muscle after postmortem superchilled and refrigerated storage. *Int. J. Food Prop.* 2018; **21**: 1911–1922.
- 41) Uchiyama H, Ehira S, Kobayashi H, Shimizu W. Significance in measuring volatile base and trimethylamine nitrogen and nucleotides in fish muscle as indices of freshness of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1970; **36**: 177–187 (in Japanese with English abstract).
- 42) Matsubara H, Kimura G, Takeuchi M, Takahashi T, & Kudoh K. The Handling of high freshness freezing mackerel providing safe and delicious sashimi, a grilled fish. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 2018; **65**: 503–507 (in Japanese with English abstract).
- 43) Uchiyama H. The current studies on the freshness of fish and their applications. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 1971; **12**: 267–276 (in Japanese).
- 44) Uchiyama S, Amano R, Kondo T, Tanabe H. Studies on the chemical indexes and the change of ATP and related compounds in decomposition of frozen shrimps. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 1974; **15**: 301–307 (in Japanese with English abstract).
- 45) Ohashi E, Okamoto M, Ozawa A, Fujita T. Characterization of common squid using several freshness indicators. *J. Food Sci.* 1991; **56**: 161–163.
- 46) Godiksen H, Morzel M, Hyldig G, Jessen F. Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chem.* 2009; **113**: 889–896.
- 47) Ando M, Nishiyabu A, Tsukamasa Y, Makinodan Y. Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *J. Food Sci.* 1999; **64**: 423–428.
- 48) Tamotsu S, Sugita T, Tsuruda K, Fukuda Y, Kimura I. Recovery from stress of spotted mackerel *Scomber australasicus* by briefly resting in a fish cage after capture stress treatment. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2012; **78**: 454–460 (in Japanese with English abstract).
- 49) Usui K, Ishizaki S, Watanabe E. Effect of NaCl and sucrose permeation on textual properties of blue marlin meat during soaking. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 2004; **51**: 339–345 (in Japanese with English abstract).
- 50) 西成勝好. 食品のテクスチャーとフレーバーリリース (Ⅱ). 日本調理科学会誌 2015; **48**: 154–165.
- 51) Kawai M, Uneyama H, Miyano H. Taste-active components in foods, with concentration on umami compounds. *J. Health Sci.* 2009; **55**: 667–673.
- 52) Zhang MX, Wang XC, Liu Y, Xu XL, Zhou GH. Isolation and identification of flavour peptides from Puffer fish (*Takifugu obscurus*) muscle using an electronic tongue and MALDI-TOF/TOF MS/MS. *Food Chem.* 2012; **135**: 1463–1470.
- 53) Lee HJ, Choe J, Kim M, Kim HC, Yoon JW, Oh SW, Jo C. Role of moisture evaporation in the taste attributes of dry- and wet-aged beef determined by chemical and electronic tongue analyses. *Meat Sci.* 2019; **151**: 82–88.