

称号及び氏名 博士(応用生命科学) 道島 俊英

学位授与の日付 平成19年2月20日

論文名 「能登のイシル(魚醤油)の理化学特性と機能性に関する研究」

論文審査委員 主査 乾 博
副査 森田 尚文
副査 中野 長久
副査 榎本 俊樹(石川県立大学)

論文要旨

石川県能登地方ではイシルと呼ばれる魚醤油が古くから造られている。能登のイシルは、イカの内臓やイワシを原料とし、そこに食塩を加え1～2年間と非常に長期間発酵・熟成させて製造されている。イシルは秋田のショツツル、香川のイカナゴ醤油と並んで日本の三大魚醤油として知られているが、ショツツル、イカナゴ醤油については多くの論文、解説があるが、イシルの研究についてはこれまでほとんど報告されていないのが現状である。

そこで、市販イシルの呈味成分、香気成分、ポリアミン類などを分析し、イシルの持つ独特の風味を把握するとともに、実際にイシルの試醸を行い、生成過程におけるイシルの呈味成分の消長やプロテアーゼの挙動について検討した。また、イシルの熟成期間の短縮を目的に、加温による速醸法でのイシルの試醸を行い、主要成分の消長について検討した。さらに、近年食品の機能性が注目されていることから、イシルの機能性(抗酸化性、血圧上昇抑制効果)を調べ、イシルの機能性食品としての可能性や、産業廃棄物であるイシル粕から超臨界二酸化炭素(SC-CO₂)法による脂質の選択的抽出について行い、イシル粕の有効利用の可能性についても検討を行った。

これらのイシルの理化学特性と新たな機能性を明らかにし、得られた知見を基に地域振興に役立てることも本研究の目的である。

市販のイカイシル、イワシイシルは、ともに濃口醤油に比べ、全窒素量が高く高塩分濃度であった。また、総遊離アミノ酸量、オリゴペプチド含有量も多く、遊離アミノ酸ではGlu、Gly、Lys、Valなどを多く含み、またオリゴペプチド構成アミノ酸はGlu、Gly、Asp、Lysなどが中心であった。イシルの主な有機酸は乳酸、ピログルタミン酸、酢酸などで腐敗悪臭の一因であるn-酪酸、など低級脂肪酸はすべての試料において検出されなかった。さらに、うま味に影響を及ぼす核酸関連物質(AMP、IMP、GMP)は検出されなかった。

イカイシルおよびイワシイシルの試醸を行った結果、生成過程における全窒素は、イカイシルでは仕込み後 7~8 カ月、イワシイシルでは 6~7 カ月でそれぞれ市販品と同等の 2.5g/100ml、2.2g/100ml に達し、その後は定常状態となった。遊離アミノ酸は、イカイシルで仕込み後 9~10 カ月、イワシイシルで 7~8 カ月で定常状態となり、アミノ酸組成も市販品とほぼ同様なパターンが得られた。オリゴペプチド量は、イカイシルは経時的に減少、イワシイシルでは経時的な増加傾向がみられ、それぞれ遊離アミノ酸量と同時期より定常状態となった。有機酸では、イカイシル、イワシイシルいずれもピログルタミン酸を除き大きな経時的変動はみられず、核酸関連物質についても、仕込み後 6 カ月以降は Hx、Xan、Gua の 3 成分であり、そのほとんどが Hx であった。

試醸したイカイシル諸味中のプロテアーゼ活性の経時的な検討を行った結果、pH に対する活性は仕込み後 2 カ月目で明らかに原料の持つ活性とは異なるパターンを示し、試醸期間中プロテアーゼ活性の消失、復帰を繰り返し、さらに pH 11 付近に新たな活性が出現するなど、経時的な変動が認められた。また、粗酵素液から精製したプロテアーゼは、試醸期間により阻害剤、金属に大きく影響されるものから、ほとんど影響を受けないものまで、原料のプロテアーゼとは異なる様々な性質を持つプロテアーゼが存在した。

イシルの香気成分には、他の魚醤油に報告されている揮発性有機酸に起因する腐敗臭はほとんど含まれておらず、生臭さの原因である trimethylamine も他の魚醤油よりは低いレベルであった。イシルの主な香気成分は、揮発性アルデヒド、ピラジン類、dimethyl disulfide が中心で、そこにケトン類やアルコール類が絡んだ非常に複雑な成分構成であることが認められた。

市販イシルのポリアミン類は、製品間によって差異がみられたが、ヒスタミン (His)、トリプタミン (Tym)、スペルミジン (Spd) などがイカイシル、イワシイシル共通して多く含まれており、特にイワシイシルが Him を多く含有していた。また、試醸期間におけるポリアミン類の消長については、一部のポリアミン類で経時的な変動がみられたが、Him については仕込み後 6 カ月までわずかに増加傾向がみられるものの、試醸期間を通してほぼ一定の値を示した。

イカイシルおよびイワシイシルの加温 (30~50℃) による速醸法での試醸を行った結果、イカイシルでは温度の上昇にともない各成分の生成速度が増加し、イワシイシルでは 40℃で最大となった。全窒素は、イカイシル(50℃)は 10 日、イワシイシル(40℃)で 38 日でそれぞれ市販品と同等となり、特にイカイシルでの著しい効果が得られた。遊離アミノ酸量は、イカイシル(50℃)で 24 日、イワシイシル(40℃)で 38 日で平衡状態となり、アミノ酸組成も市販品と同様なパターンが得られた。有機酸はイカイシル、イワシイシルいずれも乳酸、ピログルタミン酸が大部分を占め、速醸温度による影響はなく、また経時的変動も少なかった。

市販品のイカイシルおよびイワシイシルについて、抗酸化性 (リノール酸自動酸化抑制効果、DPPH ラジカル消去能)、ACE 阻害活性について検討したところ、両イシルともこれらの効果に対し強い活性を示し、抗酸化性はイカイシル、ACE 阻害活性はイワシイシルが強い傾向がみられた。また、脱塩イシル粉末を SHR に給餌したところ、イワシイシル食群において、コントロール食群に対して SHR の血圧上昇が有意に抑制された。

また、両イシル食群において SHR の血中グルコース濃度がコントロール食群よりも顕著に低下した。

次に、超臨界二酸化炭素抽出(SC-CO₂)を用いて、イシル粕から脂質の抽出を行った結果、25MPa、45°C、4時間の抽出条件で、乾燥イカイシル粕から約55%、乾燥イワシイシル粕から約17%の脂質が得られた。さらにエタノールを添加すると短時間で脂質の抽出が可能となった。また、抽出物はDHA、パルミチン酸、オレイン酸、EPAなどを多く含む脂肪酸純度が非常に高い脂質が得られた。

能登の魚醤油イシルの呈味性は多量の遊離アミノ酸、オリゴペプチドが中心となって形成され、また、二級脂肪酸やtrimethylamineなどの腐敗臭はほとんどなく揮発性アルデヒド類、ピラジン類、dimethyl disulfide、ケトン類など非常に多くの成分が複雑に絡み合ってイシル独特の風味を形成し、IMPなどの核酸関連物質はほとんど影響していないことが明らかとなった。イシルの試醸において、イカイシルでは仕込み後9~10カ月、イワシイシルで7~8カ月で大部分の成分が定常状態になったが、一方速醸法によりイカイシルは50°Cで24日、イワシイシルは40°C、38日で定常状態となり、熟成期間の短縮化も可能となった。試醸期間を通して、プロテアーゼの活性、性質が変動したことから、何らかの微生物が様々なプロテアーゼを産生しているものと考えられる。またイシルには高い抗酸化性、ACE阻害活性が確認され、動物試験においても血圧上昇抑制効果、血中グルコース濃度低減効果などが認められ、さらにSC-CO₂抽出によりイシル粕からDHA、EPAなどを多く含む純度の高い脂質が抽出できたことから、機能性食品やイシル粕の有効利用への可能性も示唆された。

以上の結果より、イシルは他の魚醤油にみられる腐敗が起因となり生じる成分がほとんどなく、豊富な呈味成分を含む品質の高い魚醤油であることが判明した。さらに、いくつものすぐれた生体調節機能を持つことも明らかとなったことから、イシルの特徴を利用した新たな食品開発に応用していきたい。

審査結果の要旨

石川県能登地方ではイシルと呼ばれる魚醤油が古くから造られている。能登のイシルは、イカの内臓やイワシを原料とし、そこに食塩を加え1~2年間と長期間発酵・熟成させて製造する。イシルは秋田のショツツル、香川のイカナゴ醤油と並んで日本の三大魚醤油として知られ、ショツツル、イカナゴ醤油には多くの論文、解説があるが、イシルの研究についてはほとんど報告されていないのが現状である。

そこで、イシルの呈味成分、香气成分、ポリアミン類などを分析し、イシルの持つ独特の風味を把握するとともに、実際にイシルの試醸を行い、生成過程におけるイシルの呈味成分の消長やプロテアーゼの挙動について検討した。また、イシルの熟成期間の短縮を目的に、加温による速醸法でのイシルの試醸を行い、主要成分の消長について検討した。さらに、近年食品の機能性が注目されていることから、イシルの機能性（抗酸化性、血圧上昇抑制効果）を調べ、イシルの機能性食品としての可能性や、産業廃棄物であるイシル粕から超臨界二酸化炭素(SC-CO₂)法による脂質の選択的抽出について行い、イシル粕の有

効利用の可能性についても検討を行い、得られた知見を基に地域振興に役立てることも本研究の目的として、以下の成果が得られた。

市販のイカイシル、イワシイシルは、ともに濃口醤油に比べ、全窒素量が高く高塩分濃度で、また、総遊離アミノ酸量、オリゴペプチド含有量も多く、遊離アミノ酸では **Glu**、**Gly**、**Lys**、**Val** を多く含み、またオリゴペプチド構成アミノ酸は **Glu**、**Gly**、**Asp**、**Lys** が中心であった。イシルの主な有機酸は乳酸、ピログルタミン酸、酢酸で腐敗悪臭の一因である **n**-酪酸など低級脂肪酸はすべての試料において検出されなかった。さらに、うま味に影響を及ぼす核酸関連物質(**AMP**、**IMP**、**GMP**)は検出されなかった。

イカイシルおよびイワシイシルの試醸を行った結果、生成過程における全窒素は、イカイシルでは仕込み後 7~8 カ月、イワシイシルでは 6~7 カ月でそれぞれ市販品と同等の **2.5g/100ml**、**2.2g/100ml** に達し、その後は定常状態となった。遊離アミノ酸は、イカイシルで仕込み後 9~10 カ月、イワシイシルで 7~8 カ月で定常状態となり、アミノ酸組成も市販品とほぼ同様なパターンが得られた。オリゴペプチド量は、イカイシルは経時的に減少、イワシイシルでは経時的な増加傾向がみられ、それぞれ遊離アミノ酸量と同時期より定常状態となった。有機酸では、イカイシル、イワシイシルいずれもピログルタミン酸を除き大きな経時的変動はみられず、核酸関連物質についても、仕込み後 6 カ月以降は **Hx**、**Xan**、**Gua** の 3 成分であり、そのほとんどが **Hx** であった。

試醸したイカイシル諸味中のプロテアーゼ活性の経時的な検討を行った結果、**pH** に対する活性は仕込み後 2 カ月目で明らかに原料の持つ活性とは異なるパターンを示し、試醸期間中プロテアーゼ活性の消失、復帰を繰り返し、さらに **pH11** 付近に新たな活性が出現するなど、経時的な変動が認められた。また、精製したプロテアーゼは、試醸期間により阻害剤、金属に大きく影響されるものから、ほとんど影響を受けないものまで、原料のプロテアーゼとは異なる様々な性質を持つプロテアーゼが存在した。

イシルの香気成分には、他の魚醤油に報告されている揮発性有機酸に起因する腐敗臭は含まず、生臭さの原因である **trimethylamine** も他の魚醤油より低かった。主な香気成分は、アルデヒド、ピラジン類、**dimethyl disulfide** が中心で、そこにケトンやアルコールが絡んだ複雑な成分であることが認められた。

市販イシルのポリアミン類は、製品間によって差異がみられたが、ヒスタミン (**His**)、トリプタミン(**Tym**)、スぺルミディン(**Spd**)などがイカイシル、イワシイシル共通して多く含まれており、特にイワシイシルが **Him** を多く含有していた。また、試醸期間におけるポリアミン類の消長については、一部のポリアミン類で経時的な変動がみられたが、**Him** については仕込み後 6 カ月までわずかに増加傾向がみられるものの、試醸期間を通してほぼ一定の値を示した。

イカイシルおよびイワシイシルの加温による速醸法での結果、イカイシルでは温度の上昇にともない各成分の生成速度が増加し、イワシイシルでは **40℃** で最大となった。全窒素は、イカイシル(**50℃**)は 10 日、イワシイシル(**40℃**)で 38 日でそれぞれ市販品と同等となり、特にイカイシルでの著しい効果が得られた。遊離アミノ酸量は、イカイシル(**50℃**)で 24 日、イワシイシル(**40℃**)で 38 日で平衡状態となり、アミノ酸組成も市販品と同様なパターンが得られた。有機酸はイカイシル、イワシイシルいずれも乳酸、ピログルタミン酸が大部分を占め、速醸温度による影響はなく、また経時的変動も少なかった。

市販品のイカイシルおよびイワシイシルについて、抗酸化性、ACE 阻害活性について検討したところ、両イシルともこれらの効果に対し強い活性を示し、抗酸化性はイカイシル、ACE 阻害活性はイワシイシルが強い傾向がみられた。また、脱塩イシル粉末を SHR に飼餌したところ、イワシイシル食群において、コントロール食群に対して SHR の血圧上昇が有意に抑制された。また、両イシル食群において SHR の血中グルコース濃度がコントロール食群よりも顕著に低下した。

次に、超臨界二酸化炭素抽出(SC-CO₂)を用いて、イシル粕から脂質の抽出を行った結果、25MPa、45°C、4時間の抽出条件で、乾燥イカイシル粕から約 55%、乾燥イワシイシル粕から約 17%の脂質が得られた。さらにエタノールを添加すると短時間で脂質の抽出が可能となった。また、抽出物はDHA、パルミチン酸、オレイン酸、EPAなどを多く含む脂肪酸純度が非常に高い脂質が得られた。

能登の魚醤油イシルの呈味性は多量の遊離アミノ酸、オリゴペプチドが中心となって形成されることが明らかとなった。イシルの試醸において、イカイシルでは仕込み後 9～10カ月、イワシイシルで7～8カ月で大部分の成分が定常状態だったが、速醸法によりイカイシルは 50°Cで 24 日、イワシイシルは 40°C、38 日で定常状態となり、熟成期間の短縮化も可能となった。またイシルには高い抗酸化性、ACE阻害活性が確認され、動物試験においても血圧上昇抑制効果、血中グルコース濃度低減効果などが認められ、さらにSC-CO₂抽出によりイシル粕からDHA、EPAなどを多く含む純度の高い脂質が抽出できたことから、機能性食品やイシル粕の有効利用への可能性も示唆された。

以上の結果より、イシルは他の魚醤油にみられる腐敗が起因となり生じる成分がほとんどなく、豊富な呈味成分を含む品質の高い魚醤油であることが判明した。さらに、いくつかの生体調節機能を持つことも明らかとなったことから、イシルの特徴を利用した新たな食品開発に応用出来ると考えられる。

以上の成果は、生化学、酵素化学および栄養分子生物学の分野に大きく貢献し、又食品加工学を通じて食品企業への大きな指針となるものであり、本論文の審査並びに、学力確認の結果と併せて、博士（応用生命科学）の学位を授与することを適当と認める。