

豆腐鯨の製造法を応用した新規カマボコ発酵食品の開発

福田 翼[†]・楯崎かれん・辰野竜平・古下 学

Fermentation of *kamaboko* products using rice and/or red rice *koji* in ethanol

Tsubasa FUKUDA, Karen KUWASAKI, Ryohei TATSUNO
and Manabu FURUSHITA

Abstract: *Kamaboko* is a traditional Japanese seafood product. Large amounts of non-standard by-products or *kamaboko* pieces are discarded during preparation. *Tofu-yo*, a unique fermented soybean protein food produced in the Okinawa prefecture, Japan, is prepared by fermenting *tofu* (soybean curd) in a soaking mixture. In this study, we applied the *tofu-yo* fermentation method to efficiently utilize *kamaboko* wastes with the aim of obtaining valuable food products. Rice and/or red rice *koji* was mixed in ethanol and fermented to prepare the soaking mixture. Ethanol concentration affected the protease activity of the soaking mixture, which influences the texture (hardness) of the fermented *kamaboko* that can consequently affect consumer preferences; at 20–40% ethanol concentration, protease activity of the soaking mixture decreased by about 20–50% compared to that of the soaking mixture without ethanol, after fermentation for 2 weeks. We also experimentally produced fermented *kamaboko* using soaking mixtures with ethanol concentrations of 20% and 40%. During fermentation, physical changes in texture and chemical changes in protein components of the fermented *kamaboko* were investigated. The maximum load values, which characterize the hardness of *kamaboko*, decreased during ripening. The values were higher in the soaking mixture with 40% ethanol than that with 20% ethanol. Crude protein content decreased during the 2-month fermentation period. However, there was no significant difference in these results between the soaking mixtures at 20% and 40% ethanol concentrations. Furthermore, viable bacterial counts decreased to almost undetectable levels. Collectively, our results showed that fermentation changed the texture of *kamaboko*; additionally, fermented *kamaboko* is hygienic owing to the low viable bacterial count.

Keyword: fermentation, *kamaboko* (minced product), traditional food technology, *koji* (malted rice)

カマボコは魚肉に食塩を添加し、すり潰してゾル化させ、加熱凝固させた伝統的な水産練り製品である¹⁾。農林水産省によれば、2015年度の生産量は470,563トンにものぼる²⁾。一方、カマボコ製造工程では、成型不良の規格外品や切れ端などカマボコ廃棄物が発生する³⁾。これらの廃棄物は製品と比較しても品質的には問題が無い。しかし、廃棄物の流通は製品価格を押し下げる要因となりうる。したがって、カマボコの特徴であるテクスチャーを変化させる新たな加工手法の提案が望まれている。近年、カマボコ廃棄物を利用した魚醤油に関する研究が行われている^{4,6)}。しかしながら、その他の利用法については報告例がない。

「豆腐鯨」は、沖縄の伝統発酵食品であり、高級珍味として知られている。米麴もしくは紅麴を泡盛と発酵させた漬け汁を作製し、豆腐を漬け込み発酵させた食品である⁷⁾。漬け汁は、麴由来プロテアーゼにより遊離アミノ酸量を増大させ、さらにテクスチャーを柔らかくする⁸⁾。これによりチーズの様なソフトなテクスチャーと独特な風味を実現し、嗜好性の高い大豆発酵食品として知られている。さらに、泡盛はアルコール濃度が高い事で知られ、一般的には20-40%程度である。すなわち、豆腐鯨の製造法は衛生的であり、一般的な企業に導入しやすく利益も見込める。しかしながら、漬け汁に関する報告はない。

本報告では、豆腐餛の製造原理をカマボコに応用した、いわゆる「カマボコ餛」の製造を試みた。まず、漬け汁作製時のアルコール濃度が酵素活性ならびに一般生菌数に及ぼす影響を調査した。さらに、かまぼこの漬け込み期間におけるテクスチャー変化を調査し、タンパク質組成変化を調査した。

カマボコ餛の製造は、桂⁷⁾の報告による豆腐餛の製造方法を改良して行った。漬け汁の作製は、米麴のみ（以下、米麴と表記）及び米麴と紅麴を等量で混合したもの（以下、米紅麴と表記）を使用した。米麴は粧屋本店（大分県）、紅麴はグンゼ（株）（大阪府）より入手した。エタノールを蒸留水で適宜希釈し、アルコール濃度0%、10%、20%、30%および40%となるように調製した。このアルコール液500 mLに各麴を500 g加え、漬け汁とした。発酵温度は30℃とし、発酵期間は2週間とした。上記で作製した漬け汁にカマボコを500 g漬け込んだ。カマボコは奥野寿久商店（山口県）より入手し、2 cm角にカットしたものを利用した。発酵温度は30℃とし、発酵期間は2ヶ月とした。一般生菌数の測定法は、まず、各試料5 gをフィルター付き滅菌袋に分取し、10倍量になるように滅菌生理食塩水で希釈した。シール処理後、120 sec stomacher処理を行った。その後、1,000 rpm・10 secの遠心処理を行い、得られた上澄み液を試料原液とした。標準寒天培地（日水製薬（株））を用いて、35℃・48時間、混釈培養を行った。得られたコロニー数から算出した。

漬け汁のプロテアーゼ活性は、次のような手順で行った。予備実験により、プロテアーゼ活性が安定化する発酵2週間目の試料を用いた。発酵2週間目の各麴液5.0 gを正確に

秤量したものに蒸留水5.0 mLを添加し、4℃・24時間粗酵素抽出を行った。抽出後、No. 2濾紙（アドバンテック東洋（株））にて自然ろ過を行い、得られた溶液を粗酵素溶液とした。ヘモグロビン（シグマ社製）を基質として使用し0.05 M酢酸緩衝液（pH 4.5）に最終濃度が0.6%（w/v）となる様調整したものを基質溶液として用いた。基質溶液1 mLに粗酵素溶液1 mLを加え、40℃で30 min反応後、5%（w/v）トリクロロ酢酸5 mLを加えて反応を停止した。反応液は40℃で30 min放置することにより沈殿を形成させた後、No. 2濾紙を用いて自然濾過を行い、濾液について280nmにおける吸光度を測定した。また、酵素単位1 unitは、1 minに1 µgのチロシンを生成する酵素量として換算し、培養基質1 gあたりの酵素活性を酵素生産性の指標とした。結果は、エクセル統計（（株）社会情報サービス）を用いて一元配置分散分析及び多重比較を行った。多重比較はTukey法を用いた。

硬さの測定はレオメーター（RE-3305, 山電（株））を使用して行った。測定試料は2 cm角の形状を保持しているものを用いた。測定条件は、プランジャーの形：直径40 mmの円板状、圧搾変形率：20%、荷重回数：2回、試料台速度：1 mm/sec、データ格納ピッチ：0.05 secとした。

SDS-PAGEは次のように行った。ホモジナイズ処理した各カマボコ0.4 g精秤し、8M尿素（和光純薬工業（株））、2%SDS（和光純薬工業（株））、2%メルカプトメタノール（和光純薬工業（株））を含む20mM Tris-HCl緩衝液（pH 8.0）7.5 mLを加え、2 min煮沸した。煮沸後、20時間以上25-30℃で振とうさせながら溶解した。溶解後、溶解液を0.2 mL採取し、2%SDS、2%メルカプトメタノール、50%グリ

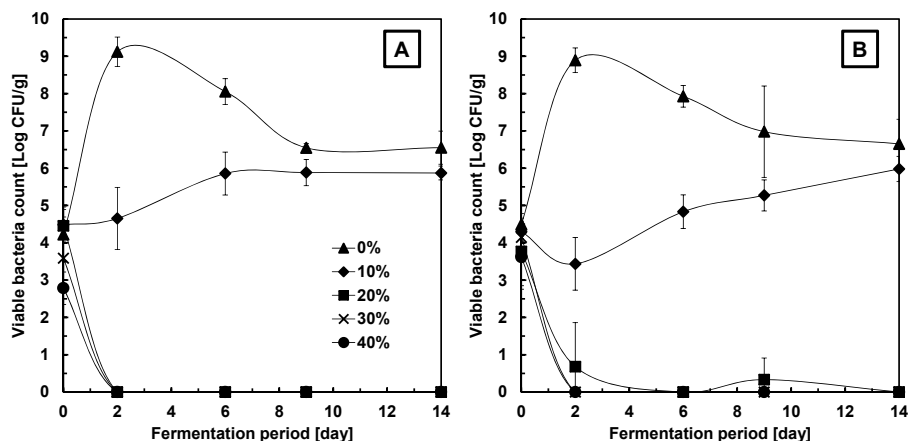


Fig. 1 Changes in viable bacterial count in soaking mixtures with different ethanol concentrations during fermentation
(A) Rice koji (B) Rice koji and red rice koji

セロール（和光純薬工業（株））を含む20 mM Tris-HCl緩衝液（pH 8.0）を0.05 mL加え1 min煮沸して測定試料とした。

SDS-PAGEは常法⁹⁾に従い、0.1%SDSを含む15%ポリアクリルアミドミニスラップゲルを用いた。電気泳動後、ゲルを30%メタノール、10%酢酸を含む0.1% Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-250で染色し、30%メタノール、10%酢酸を含む溶液で脱色した。分子量マーカーはLow Molecular Weight Calibration Kit for SDS Electrophoresis (GEヘルスケア・ジャパン（株））を用いた。

米麴および米紅麴を用いた漬け汁における発酵期間中の一般生菌数変化を調査した。アルコール濃度は0-40%とした。米麴を用いた場合の結果をFig. 1Aに示した。アルコール濃度0-10%の一般生菌数は経時的に増加した。しかしながら、アルコール濃度20-40%ではいずれの場合においても検出限界以下となった。米紅麴を用いた場合の結果をFig. 1Bに示した。米麴の場合と同様、アルコール濃度0-10%の一般生菌数は経時的に増加し、アルコール濃度30-40%においても検出限界以下となった。しかしながら、アルコール濃度20%では0.1Log CFU/g程度の一般生菌数が検出された。これらの結果により、20%以上のアルコール濃度により一般生菌数が制御可能であることが明らかとなった。

漬け汁中に含まれるプロテアーゼは、タンパク質組成やテクスチャーに影響を及ぼす^{8,10)}。そこで、上記で得られた発酵2週間目の米麴および米紅麴を用いた漬け汁のプロ

テアーゼ活性を測定した。その結果をFig. 2に示す。米麴の場合、アルコール濃度0%と比較しアルコール濃度30-40%の活性は2割程度、有意 ($p < 0.05$) に低下した。一方、米紅麴の場合はアルコール濃度0-20%ではほぼ活性に変化が見られなかったのに対し、アルコール濃度0%と比較しアルコール濃度40%では、5割程度低下した。しかしながら、有意差は確認されなかった。これらの結果により、漬け汁のアルコール濃度がカマボコ饅の品質に影響を及ぼす事が示唆された。一般生菌数の結果を踏まえ、以下のカマボコ饅の製造にはアルコール濃度20%および40%の漬け汁を用いる事とした。

米麴の漬け汁（以下、米カマボコ饅と表記）および米紅麴の漬け汁（以下、米紅カマボコ饅と表記）を用いたカマボコ饅の製造を試みた。各カマボコ饅における発酵期間中の一般生菌数の変化をFig. 3に示した。米かまぼこ饅の場合、アルコール濃度20%および40%ではいずれの場合においても一般生細菌数は検出限界以下となった。米紅かまぼこ饅の場合、アルコール濃度40%では発酵期間中の一般生菌数は検出限界以下となった。一方、アルコール濃度20%の場合、1ヶ月までは一般生菌数が増殖傾向が見られ4.0 Log CFU/g程度に到達し、バラツキも大きかった。しかし、2ヶ月後には検出限界以下となりバラツキもなく安定した。

各カマボコ饅における発酵期間中の硬さ変化を調査した。硬さは圧搾変形率20%までの最大荷重により評価した。その結果をFig. 4に示す。米カマボコ饅と米紅カマボコ饅は同様の傾向を示し、時間経過と共に軟化した。また、ア

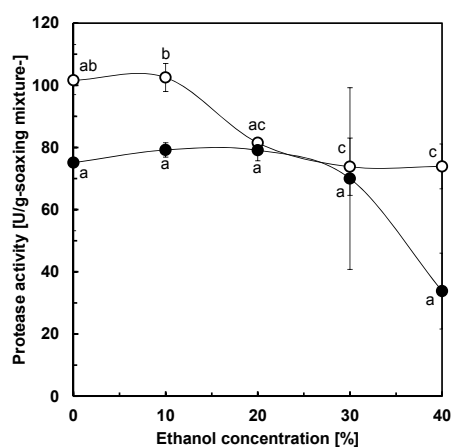


Fig. 2 Effect of ethanol concentration of the soaking mixture on protease activity Unfilled symbols, rice koji; Filled symbols, rice koji and red rice koji Means denoted by the same letters are statistically similar ($P > 0.05$).

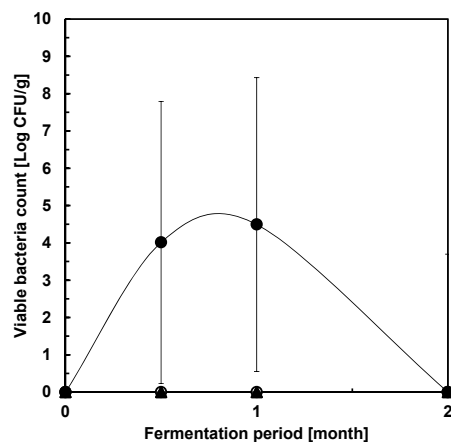


Fig. 3 Changes in viable bacterial count in fermented kamaboko Unfilled symbols, rice koji; Filled symbols, rice koji and red rice koji Circles, 20% ethanol concentration; Triangles, 40% ethanol concentration

アルコール濃度40%の方がアルコール濃度20%よりも硬さを保持していた。豆腐鯨の場合も同様に時間経過と共に軟化する。アルコール濃度20%時のカマボコ鯨の硬さは、アルコール濃度20%時の豆腐鯨と同程度であった。豆腐鯨の軟化は、プロテアーゼによるタンパク質分解と構造変化に起因するとされている¹⁰⁾。そこで各カマボコ鯨におけるタンパク質組成変化を調査した。その結果をFig. 5に示す。発酵前のカマボコ鯨における主要なタンパク質成分は45 kDa付近に検出され、45 kDaからゲル下端までに複数のバンドが認められた。米カマボコ鯨および米紅かまぼ鯨のいずれにおいても、発酵時間の経過に伴って緩やかに消失する傾向が見られ、発酵2ヶ月目には大部分のバンドが消失

した。この結果は、豆腐鯨の結果とも一致する¹⁰⁾。したがって、時間経過に伴う軟化はタンパク質分解に起因するものと推測される。しかしながら、アルコール濃度の影響は確認されず、硬さ変化の結果とは一致しなかった。今後は、遊離アミノ酸量の分析、表面構造の観察などを行い、アルコール濃度が硬さ変化に及ぼす影響を詳細に検討する必要がある。

上記の研究成果より、豆腐鯨製造法を応用したカマボコ鯨の可能性が示唆された。得られたカマボコ鯨は「チーズの様な食感で甘味がある（米カマボコ鯨）」や「コクがあり後味がよい（米紅カマボコ鯨）」などのアンケート結果が得られている。今後は、漬け汁がカマボコ鯨の品質に及ぼす影響を明らかにし、最適な製造条件を明らかにする必要がある。

参考文献

- 1) 山澤正勝：かまぼこ総論。福田 裕，山澤正勝，岡崎 恵美子（編），全国水産加工総覧。光琳，東京，261-253 (2005)
- 2) 農林水産省：平成27年 水産加工統計調査
- 3) 樽井義和：水産系残渣の発生と回収。坂口守彦，平田 孝（編），水産資源の先進的有効利用法 -ゼロエミッションをめざして-。エヌ・ティー・エス，東京，15-28 (2005)
- 4) Takano T, Shozen K, Satomi M, Taira W, Abe H, Funatsu Y: Quality of fish sauce products from

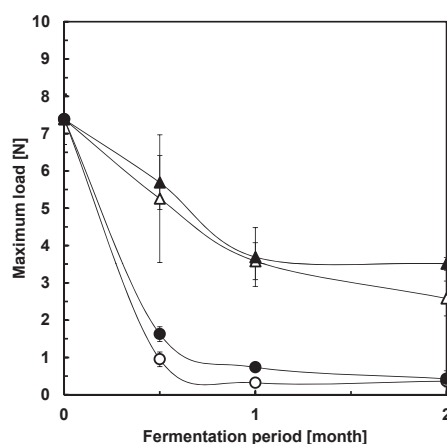


Fig. 4 Changes in hardness of fermented *kamaboko*. Unfilled symbols, rice *koji*; Filled symbols, rice *koji* and red rice *koji*. Circles, 20% ethanol concentration; Triangles, 40% ethanol concentration

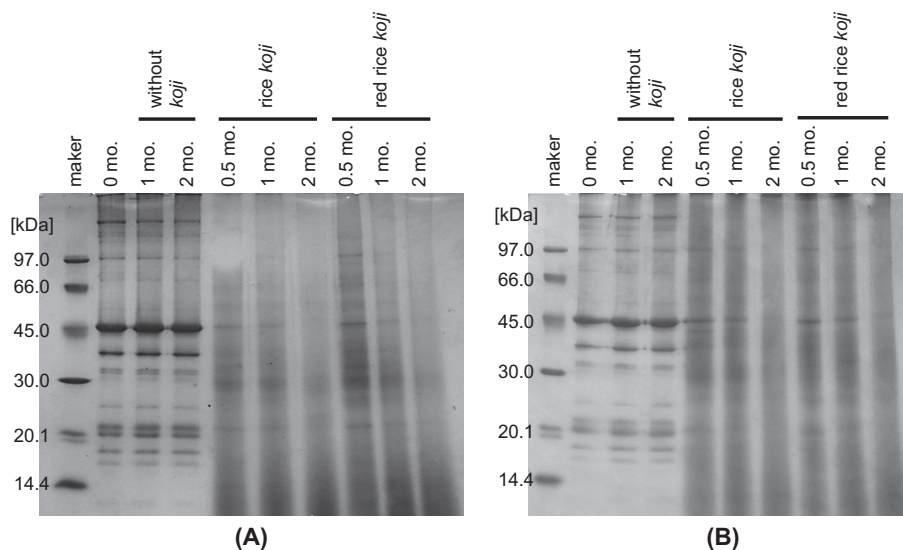


Fig. 5 Changes in SDS-PAGE patterns of *kamaboko* proteins during fermentation (A) 20% ethanol concentration (B) 40% ethanol concentration

- recycled by-products from fish gel and *kamaboko* processing. *J Food Qual*, **35**, 217-227 (2012)
- 5) 小善圭一, 高野隆司, 里見正隆, 高橋 努, 船津保浩: 発酵中の魚醤油もろみの品質に及ぼす蒲鉾製造ロスの影響. 日本水産学会誌, **76**, 1083-1085 (2012)
- 6) 舊谷亜由美, 船津保浩, 小善圭一, 原田恭行, 高野隆司, 矢野 豊, 里見正隆: 醤油麴を用いて製造したニギス魚醤油および蒲鉾製造ロス醤油の発酵初期に起こるタンパク質の分解について. 日本水産学会誌, **78**, 726-735 (2012)
- 7) 桂 正子: 豆腐よう. 日本調理科学会, **29**, 314-322 (1996)
- 8) 安田正昭, 松本哲也, 坂口真樹, 金城さきえ: 紅麴と黄麴の併用によるとうふよりの製造. 日本食品科学工学会誌, **42**, 38-43 (1995)
- 9) Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685 (1970)
- 10) 安田正昭, 金城さきえ, 三木英三: とうふよりの熟成過程における破断特性, クリープ挙動及び微細構造の変化. 日本食品科学工学会誌, **43**, 322-327 (1996)