

## 低・未利用水産資源を活用した水産発酵調味料の成分評価と 魚類キチン分解酵素活性の体内分布

柿 崎 博 美<sup>1)</sup>, 山 崎 葵<sup>2)</sup>, 石 原 健 吾<sup>1,2)</sup>

(<sup>1)</sup>龍谷大学 発酵醸造食品機能性研究センター\*, <sup>2)</sup>龍谷大学 農学部 食品栄養学科)

(受付 2025年8月31日, 受理 2025年10月7日)

### Functional and Component Evaluation of Fermented Marine Seasonings from Underutilized Aquatic Resources and Organ-Specific Chitinolytic Activities in Fish

Hiromi KAKIZAKI<sup>1)</sup>, Aoi YAMASAKI<sup>2)</sup>, Kengo ISHIHARA<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Research Center for Functions of Fermented Food, Ryukoku University

<sup>2)</sup>Department of Food and Nutrition Sciences, Faculty of Agriculture, Ryukoku University

#### Summary

This study investigated the fermentation process and compositional changes of fish sauce produced from Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*), focusing on formol nitrogen, histamine content, salt concentration, pH, and allergenicity. Additionally, fish sauces were prepared using underutilized aquatic resources, including bluegill (*Lepomis macrochirus*), freshwater prawn (*Macrobrachium nipponense*), and oyster residues, and their chemical characteristics were evaluated. To support sustainable food development, the potential of low-value marine materials was explored. Furthermore, organ-specific distribution of chitinase activity was analyzed in eight fish species, revealing species-specific patterns. These findings contribute to the selection of suitable raw materials and enhancement of fermented seafood seasonings.

近年、混獲や規格外などを理由として十分に活用されていない低・未利用水産資源や、水産加工副産物の有効利用は、資源循環型社会の実現に向けた重要な課題とされている<sup>1,2)</sup>。これらの資源は従来、廃棄または飼料・肥料用途に限られていたが、タンパク質やミネラルを多く含むことから、食品原料としての活用が注目されている。その手法の一つが発酵であり、栄養価の向上や風味の改善を通じて資源の高付加価値化に寄与する有効な手法といえる。

発酵食品の中でも、醤油は穀物と塩を原料に麹菌や酵母などの働きで製造される伝統的な調味料で、日本や東南アジアで古くから親しまれてきた。一方、魚介類を原料とする「魚醤 (fish sauce)」は、魚肉中の酵素や好塩性微生物により発酵・熟成される水産発酵食品であり、グルタミン酸やアスパラギン酸などの遊離アミノ酸、イノシン酸などの旨味成分を豊富に含むことから、濃厚な旨味を有する調味料である<sup>3)</sup>。また、魚醤の製造には特別な設備や高度な技術を必要とせず、基本的には魚と塩のみで製造可能であるため、漁業従事者自身による加工も可能である。このような製造の簡便性は、現場における低・未利用資源の活用を促進し、それらの高付加価値化を通じて、地域社会の持

続的な発展に貢献し得る可能性を秘めている。

魚醤の原料としては、カタクチイワシが安価かつ小型でありながら、魚醤としては甘味がありクセが少ない製品となる。魚類は良質なタンパク質やエイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、カルシウムなどの栄養素を豊富に含んでいるため、魚醤はそれらを効率的に摂取できる食品としての価値も高い。

一方で、発酵は温度や湿度などの環境因子や季節による影響を受けやすく、品質のばらつきが課題となる。特に発酵に関与する微生物の種類や活性は、製品の風味や栄養成分に大きく影響する<sup>3)</sup>。しかし、こうした変動要因は地域特有の気候や原料の違いを反映した魚醤の多様性を生み出す要因でもある。また、微生物を利用することから安全性の確保は不可欠である。特に発酵過程において、ヒスチジンからヒスタミンを生成する微生物が存在する場合、ヒスタミンの蓄積によって食中毒リスクを生じる可能性があるため、発酵微生物の管理や成分の適切な評価体制の整備が必要である<sup>4)</sup>。

さらに近年、魚類による食物アレルギーの発症例が増加傾向にあり、社会的にも関心が高まっている。魚類の主要

\*所在地：大津市瀬田大江町横谷1-5（〒520-2194）

アレルゲンであるパルブアルブミンは、熱に安定な水溶性筋形質タンパク質であるため、加熱後のアレルゲン性残存が報告されている<sup>5)</sup>。魚類発酵食品におけるアレルゲン量の変化は、未だ十分な知見が得られておらず、数値化された報告も少ない<sup>6)</sup>。

筆者らはこれまで、魚類（マイワシなど）をはじめとする水生生物におけるキチン分解酵素の分布および活性に着目した研究を行ってきた<sup>7,8)</sup>。その中で、魚類の胃には摂取した餌料に含まれるキチン質を分解するエンド型のキチン分解酵素（キチナーゼ）が分泌されていること、ほとんどの魚類の胃には2種類のキチナーゼが存在し、それぞれキチンの非還元末端から2番目および3番目を切断する酵素であることを明らかにしている。また、胃に限らず、魚類の体内各部位にも広くキチナーゼ活性が分布していることが確認されている。さらに、エキソ型キチン分解酵素である $\beta$ -N-アセチルヘキソサミニダーゼ（Hex）は、魚類の全身で発現していることも明らかとなっている<sup>9)</sup>。

これらの知見をもとに、すでに明らかになっているマイワシと同じニシン目であるカタクチイワシにキチン質を含むイカの中骨（ $\beta$ -キチン）を加えることで、発酵過程におけるキチン質の分解と、それに伴う呈味成分の生成やアレルゲン性に変化が生じるのではないかと仮定した。

そこで本研究では、カタクチイワシ単独およびカタクチイワシ+イカ中骨を原料とした各種魚醤の試作を行い、pH、塩分、ホルモール窒素、ヒスタミン、アレルゲン性などの指標を測定し、未利用資源の有効活用と発酵食品としての品質の比較検討を目的とした。

さらに、牡蠣肉の熱水抽出残渣や、琵琶湖の水産資源であるブルーギルおよびテナガエビについても、地域性を活かした魚醤原料としての可能性を検討した。また、魚類におけるキチン分解酵素活性の体内分布を解析することで、他魚種における魚醤素材としての応用可能性についても検討を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

魚醤の試作には、当日漁獲されたカタクチイワシは未処理のまま使用した。イカの中骨は乾燥状態のものをフレーク状に粉碎して使用した。牡蠣残渣は日本クリニック株式会社より提供されたものを使用し、ブルーギルおよびテナガエビは、琵琶湖沿岸で漁獲されたものをそのままの状態で試料とした。また、キチン分解物として使用したNA-COS-Yは焼津水産化学工業株式会社の製品を使用した。

キチン分解酵素の体内分布測定に用いた8魚種は、当日漁獲されたものを使用し、購入後すぐに各組織を摘出した。各組織は、20 mM リン酸緩衝液（pH 7.3）中でホモジナイズ後、4°C、15,000 × g、15分間遠心し、その上清を試料（粗酵素液）とした。基質として使用した $p$ -Nitrophenyl N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide ( $p$ NP-GlcNAc),  $p$ -Nitro-

phenyl N,N'-diacetyl- $\beta$ -D-chitobioside ( $p$ NP-(GlcNAc)<sub>2</sub>),  $p$ -Nitrophenyl N,N', N"-triacetyl- $\beta$ -D-chitotrioside ( $p$ NP-(GlcNAc)<sub>3</sub>)、は焼津水産化学工業株式会社の製品を使用した。

### 2. カタクチイワシ魚醤の作製と成分分析

#### 2.1. 試料調製

カタクチイワシ 500 g に対し、食塩 125 g（最終塩濃度 25%）を加え、イカ中骨をカタクチイワシ重量に対して 0%, 20%, 50%, 100% となるように添加した。これらを清潔な容器に入れ、室温（約 25°C）で魚体が均質化するまで毎日搅拌し、室温で発酵を継続した。発酵過程において、定期的に容器内から 15 mL を採取し、室温、7,000 × g、10 分間遠心分離した上清を各種成分分析のためのサンプルとした。なお、本研究では材料の入手および実験条件の制約により、各試料についての測定は 1 回（n=1）のみで実施した。そのため、標準偏差やエラーバーなどの統計的処理は行っていない。

#### 2.2. 塩分濃度の測定

試料 1 mL を 10 倍に希釀した検液を用い、ポケット塩分計（PAL-ES1, アタゴ株式会社）により 3 回測定し、その平均値を算出した。

#### 2.3. pH の測定

試料 500 μL を 10 倍に希釀した検液について、pH メーター（LAQUAtwin pH, 堀場製作所）を用いて 3 回測定し、平均値を求めた。

#### 2.4. ホルモール窒素量の測定

ホルモール窒素量は、日本農林規格（JAS）に準拠した醤油試験法<sup>10)</sup>により測定した。試料を 50 倍に希釀後、pH 調整およびホルムアルデヒド溶液の添加を行い、pH 8.5 まで滴定した。0.1 mol/L NaOH の使用量からホルモール窒素量（W/V%）を算出した。

#### 2.5. ヒスタミン量の測定および添加回収試験

ヒスタミン量は、市販のヒスタミン測定キット（チェックカラーヒスタミン、キッコーマン）を用いて、製品添付のマニュアルに従って定量した。測定法の信頼性を確認するため、同マニュアルに従って標準液を添加したサンプルと非添加サンプルを用いた添加回収試験も実施した。

#### 2.6. アレルゲン性の測定（ELISA 法）

アレルゲン性の評価には、酵素免疫測定法（ELISA、間接法）を用いた。コーティング、プロッキング、一次抗体（マウスモノクローナル抗体：anti-frog PA, カエル由来パルブアルブミンに対する抗体, Sigma-Aldrich Co., MO, USA）および二次抗体（HRP 標識抗体）の反応、発色、反応停止などの操作は、Engvall and Perlmann

(1971)<sup>11)</sup>に準じた一般的なELISA手法に従い、吸光度は450 nmで測定し、アレルゲン性を評価した。

### 3. ブルーギル・テナガエビ・牡蠣残渣を用いた醤油の作製と成分分析

各素材（ブルーギル、テナガエビ、牡蠣残渣）について、50 gのそれぞれの原料に対し、食塩を12.5 g（塩濃度25%）加え、清潔な容器にて発酵させた。発酵期間中は毎日攪拌を行い、原料の形状が崩れるまで発酵を継続した。定期的に250  $\mu$ Lを採取し、室温、7,000  $\times$  g、5分間遠心分離した上清を分析に用いた。また、ホルモール窒素量測定およびヒスタミン量測定は2.4および2.5に記載した方法を用いた。

### 4. 8種魚類のキチン分解酵素活性の体内分布

キチン分解酵素活性の体内分布測定は、筆者の先行研究（柿崎ほか、2015）<sup>9)</sup>においてマサバおよびシログチを対象に実施した方法に準じて行った。基質にはpNP-(GlcNAc)<sub>n</sub> ( $n = 1-3$ )を用い、酵素溶液6.0  $\mu$ Lと、4 mMに調整した基質溶液5  $\mu$ Lを、0.2 M リン酸-0.1 M クエン酸緩衝液（pH 4.5, McIlvaine 緩衝液）20  $\mu$ Lに加えて混合し、37°C

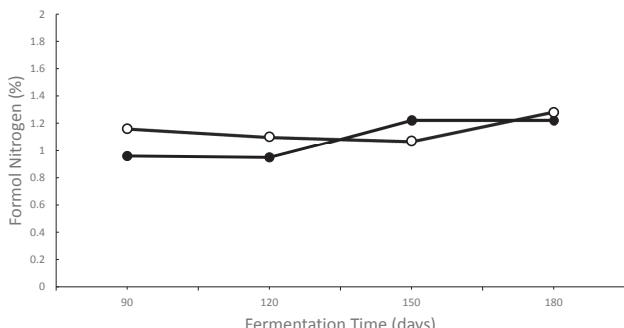


Fig. 1. Time-Course Changes in Formol Nitrogen Concentration During Fermentation.

Changes in formol nitrogen concentration during fermentation of anchovy-based fish sauce.

● indicates anchovy; ○ indicates anchovy with added squid skeletal cartilage.

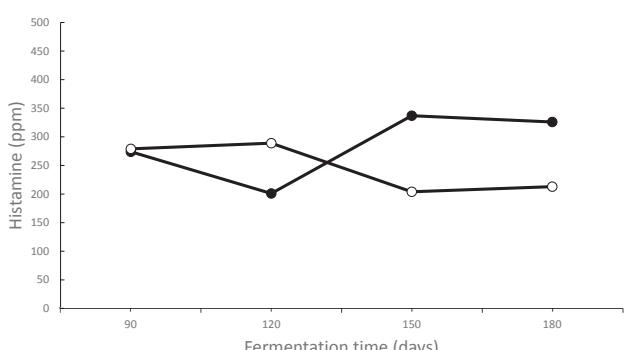


Fig. 2. Temporal Variation in Histamine Content During Fermentation.

Changes in histamine concentration during fermentation of anchovy-based fish sauce.

● indicates anchovy; ○ indicates anchovy with added squid skeletal cartilage.

で20分間反応させた。反応後すぐに0.2 M炭酸ナトリウム溶液130  $\mu$ Lを加えて反応を停止し、生成したp-ニトロフェノールの吸光度を420 nmで測定した。酵素活性1単位(U)は、1分間に1  $\mu$ molのp-ニトロフェノールを遊離する酵素量と定義した。こちらも2.1.と同様に、各試料についての測定は1回(n=1)のみで実施した。

## 結果

### 1. カタクチイワシ魚醤の成分変化

#### 1.1. 発酵過程と貯蔵中の塩分、pH

カタクチイワシ単独およびイカ中骨を添加した試料は、室温で6ヶ月間発酵させた。発酵開始から約1ヶ月で魚体が崩れ始め、3ヶ月目にはほぼ完全に分解された。これに伴い、塩分濃度とpHは安定し、4ヶ月目以降は塩分濃度が25%，pHが6.3で安定した。これらの値は市販魚醤（塩分濃度25%，pH 6.1）とほぼ同等であった。

#### 1.2. ホルモール窒素量

うま味成分の指標であるホルモール窒素量は、発酵3ヶ月目以降に顕著な変化を示した（Fig. 1）。カタクチイワシ単独試料では、3～6ヶ月の間に0.96～1.22%の範囲で増加し、イカ中骨添加試料では1.07～1.28%の値を示した。市販品（1.48%）には及ばないものの、いずれも魚醤として十分なうま味を有していた。

#### 1.3. ヒスタミン量

ヒスタミン量は、カタクチイワシ単独試料で最大337 ppm、イカ中骨添加試料では最大289 ppmであった（Fig. 2）。市販品（9.2 ppm）と比較すると高値であり、発酵期間中の変動も大きかった。

#### 1.4. アレルゲン性

ELISA法によるアレルゲン性評価では、液体部分では発酵の進行に伴い低下し、最終的には0.48前後で安定した。イカ中骨添加試料ではさらに低い値を示し、0.44で安定した。魚体残渣も同様に低下傾向を示し、最終的には0.42～0.45の範囲で安定した（Fig. 3）。市販品（0.62）と比較すると、いずれもやや低い値であり、アレルゲン性が低減していることが明らかとなった。

### 2. 新規素材を用いた魚醤の成分評価

#### 2.1. ホルモール窒素量

新規素材として、ブルーギル、テナガエビ、牡蠣残渣を用いた魚醤を作製し、40°Cで2ヶ月間貯蔵した。いずれの素材も、発酵初期（10日目）にはホルモール窒素量が低く、ブルーギルおよびエビ醤油では0.35～0.45%，牡蠣残渣醤油では0.10%であった。

貯蔵終了時（60日目）には、ブルーギル醤油で最大0.80%，エビ醤油で0.85%，牡蠣残渣醤油では0.45%まで

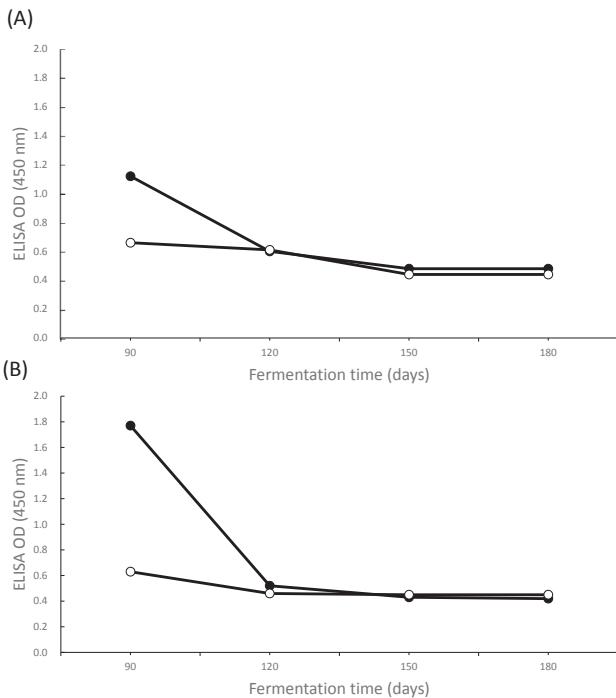


Fig. 3. Time-Dependent Changes in Allergenicity During Fermentation.

Changes in allergenicity during fermentation of anchovy-based fish sauce, assessed by ELISA using anti-parvalbumin antibodies. ● indicates anchovy; ○ indicates anchovy with squid skeletal cartilage. (A) represents the liquid fraction (fish sauce filtrate); (B) represents the solid residue remaining after fermentation.

上昇した。なお、キチンオリゴ糖（焼津水産化学工業（株）；NA-COS-Y）を添加した試料では、ブルーギル醤油で0.65%，エビ醤油で0.80%と、添加なしの試料と比較してやや低い値を示した。

## 2.2. ヒスタミン量

ヒスタミン量は全体的に低く、ブルーギル醤油では添加なしで15 ppm、ブルーギル+NA-COS-Y醤油で8 ppm、テナガエビ醤油では8 ppm、テナガエビ+NA-COS-Y醤油で6 ppmであった。牡蠣残渣醤油では検出限界以下（N.D.）であり、ヒスタミン生成の抑制が示唆された。これらの値は、カタクチイワシ魚醤と比較して顕著に低かった。

## 3. 魚類におけるキチン分解酵素の活性の体内分布

8種の魚類を対象に、キチン分解酵素活性の体内分布を調査した。全魚種においてHex活性は広く確認されたが、本稿では魚種ごとの特徴が顕著に現れたキチナーゼ活性の分布を図に示した（Fig. 4）。

アイナメでは主に消化器官に高いキチナーゼ活性が確認され、その他の組織でも活性が確認された。イボダイは肝臓に特異的な高活性を示し、カマスでは胃および肝臓に活性が確認された。クロマグロは、全体的に活性は低く、消化器官において比較的高い値を確認した。タチウオは消化器官に活性が集中しており、ホウボウおよびメジナでは複

数の組織に広く確認された。マゴチは腎臓において特異的に高いキチナーゼ活性を確認し、他の組織との相違が明確であった。

## 考 察

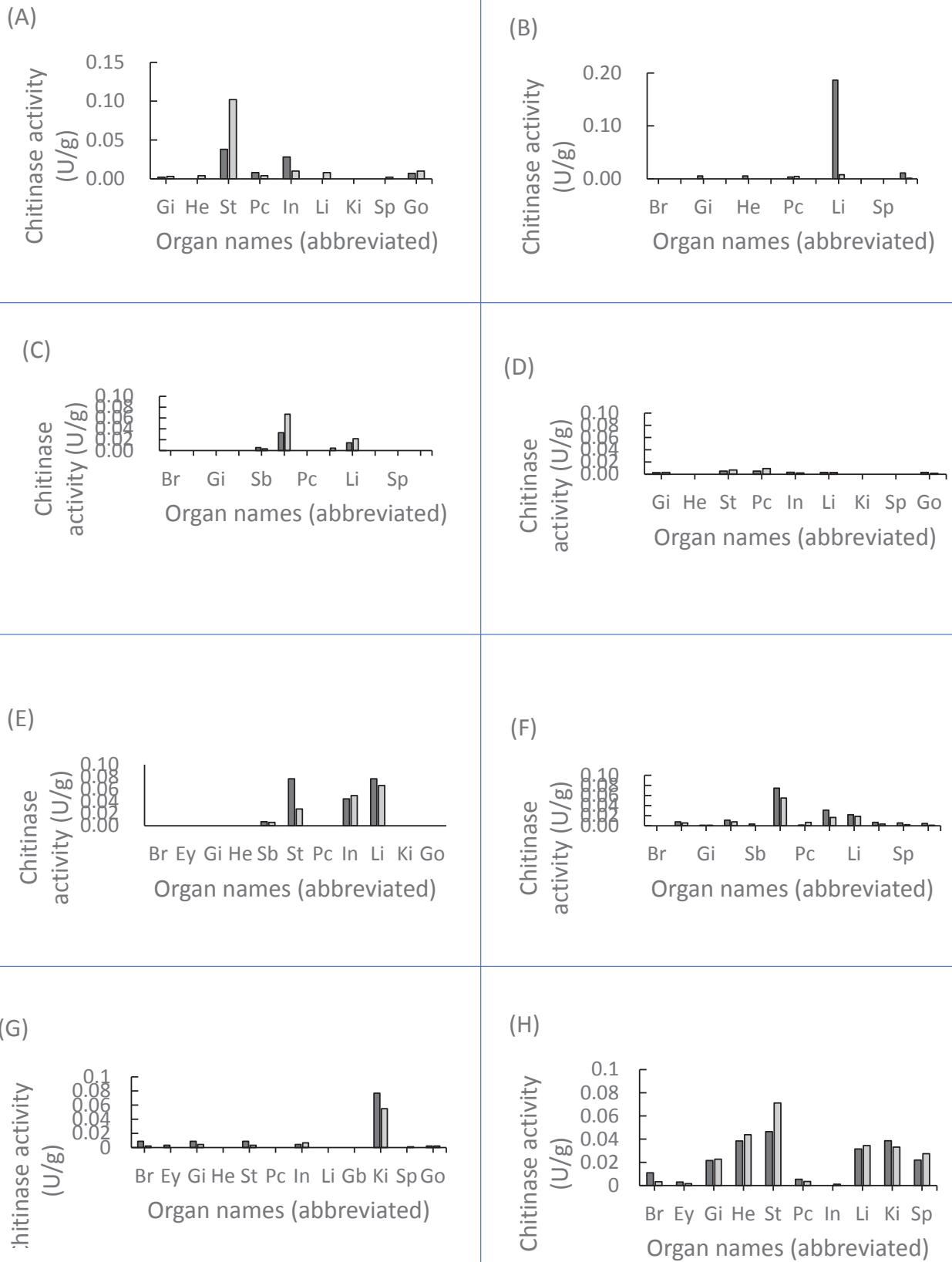
本研究では、低・未利用水産資源を活用した魚醤の作製と成分評価、ならびに魚類におけるキチン分解酵素活性の体内分布を調査した。

カタクチイワシを用いた魚醤では、発酵が進むにつれて魚体が崩れ、塩分濃度およびpHが市販品と同等の値に安定した。ホルモール窒素量は発酵期間中に増加し、イカ中骨の添加により若干の違いが見られたが、いずれも魚醤としての旨味成分を十分に含んでいた。一方、ヒスタミン量は市販品と比較して高値を示し、特にカタクチイワシ単独魚醤では300 ppmを超える値も記録された。Codex規格における魚醤のヒスタミン基準である400 ppm以下には収まっていたものの、より安全性を高めるためには、発酵条件および原料選定の改善が必要である。なお、Codex規格では、一般的な醤油に対しては腐敗基準として100 ppm、衛生・取扱基準として200 ppmが設定されており、魚醤については400 ppm以下と定められている<sup>4,12)</sup>。しかし、摂取量によってはヒスタミンが低い値でもヒスタミン中毒の報告があるため、可能な限り低い値であることが望ましい。

ELISA法によりパルプアルブミンを定量した結果、市販品と同程度の低い値を示した。特にイカ中骨添加試料では、液体部分・魚体残渣ともに低い値で安定しており、イカ中骨添加はアレルゲン性の低減に寄与する可能性がある。ただし、本研究で使用した抗体（anti-frog PA）は、Kurataらの報告<sup>13)</sup>にあるように魚類との交差性には限界があり、実際に魚種によって反応性が認められないケースもあり、今後はそれぞれの魚類パルプアルブミンに対する特異性の高い抗体の作製および評価法が求められる。

ブルーギル、テナガエビ、牡蠣残渣を用いた魚醤では、短期間の発酵にもかかわらずホルモール窒素量が上昇し、特にエビ醤油では高い値を示した。これは、カタクチイワシとは異なり、原料中のヒスチジン量がそもそも少ないこと、あるいは、宇多川の報告<sup>14)</sup>にあるように貯蔵温度を高めたことによる影響が考えられた。NA-COS-Yを添加した場合、発酵がやや抑制され、旨味成分の生成が減少する傾向が見られた。一方で、ヒスタミン量としては8~15 ppmと全体的に低く、牡蠣残渣を用いた試料では検出限界以下であった。これらの結果は、素材の特性やキチン分解物の効果に起因する可能性があり、NA-COS-Yが微生物の活性や発酵過程に影響を与えた可能性も考えられる<sup>15)</sup>。また、発酵条件や原料の違いによる影響も考えられることから、今後の詳細な検討が必要である。

キチン分解酵素活性の体内分布に関する調査では、Hex活性が全魚種に広く確認された一方で、キチナーゼ活性に



**Fig. 4.** Distribution of chitinolytic enzyme activities in the organs of eight fish species.

A: *Hexagrammos otakii* (Greenling), B: *Psenopsis anomala* (Pacific rudderfish), C: *Sphyraena spp.* (Barracuda), D: *Thunnus orientalis* (Pacific bluefin tuna), E: *Trichiurus lepturus* (Largehead hairtail), F: *Chelidonichthys spp.* (Gurnard), G: *Platycephalus sp.* (Flathead), H: *Girella punctata* (Greenfish).

は魚種ごとの特徴が認められた。消化器官に活性が集中する魚種（アイナメ、タチウオ、クロマグロ）や、肝臓（イボダイ）、腎臓（マゴチ）に特異的な活性を示す魚種も存在し、ホウボウやメジナでは複数の組織に広く確認された。これらの分布は、魚種の消化特性や生活様式と関連している可能性があり、酵素利用や素材選定における基礎情報として有用であると考える。

以上の結果から、未利用水産資源を活用した魚醤の開発は、旨味成分の生成やアレルゲン性の低減において一定の成果を示した。特に、発酵過程における成分変化の詳細な分析により、素材の特性に応じた魚醤の品質向上が可能であることが示唆された。

また、魚類の消化管や一部の器官を用いた研究報告はあるが、魚類のはほぼ全ての器官におけるキチン分解酵素の体内分布に関する報告は、本研究以外にこれまでに報告例がなく、今回得られたデータは学術的にも意義深いものである。本研究は、魚類の生理機能の理解を深めるとともに、酵素資源としての応用の可能性を示すものであり、今後の応用研究や製品開発に向けた重要な知見である。

## 文 献

- 1) 宮田 勉、鈴木 裕己 (2022) 未利用・低利用魚介類資源の利用意義・発生要因・流通改善に関する一考察：先行研究レビューおよび事例分析によるアプローチ。沿岸域学会誌 35 (3) : 17-26
- 2) 白井 一茂 (2021) 水産物の有効利用と機能性成分の活用. *Funct Food Res* 17 : 37-43
- 3) 野間 誠司 (2022) 魚醤の製造プロセス検討と細菌叢解析 魚醤の研究動向. *化学と生物* 60: 453-458
- 4) 里見 正隆 (2012) 魚醤油のヒスタミン蓄積機構と除去法について. *日本醸造協会誌* 107 (11) : 842-852
- 5) 塩見 一雄 (2008) 魚介類アレルゲンの免疫生物学とアレルギー疾患. *アレルギー* 57 (11) : 1083-1093.
- 6) 高見 麻莉、王 曜、平山 由布、濱田 友貴 (2024) 魚醤における魚類主要アレルゲンパルブアルブミンの減少と自己消化酵素の関係. *日本水産学会誌* 90 (1) : 43-45.
- 7) 松宮 政弘、柿崎 博美、池田 愛 (2017) 魚類の繁栄戦略とキチナーゼ. *キチン・キトサン研究* 23 (1) : 1-13
- 8) Ikeda M, Kakizaki H, Matsumiya M (2017) Biochemistry of Fish Stomach Chitinase. *Int J Biol Macromol* 104 : 1672-1681
- 9) Kakizaki H, Ikeda M, Fukushima H, Matsumiya M (2015) Distribution of Chitinolytic Enzymes in the Organs and cDNA Cloning of Chitinase Isozymes from the Stomach of Two Species of Fish, Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) and Silver Croaker (*Pennahia argentata*). *Open J Mar Sci* 5 (4) : 369-379
- 10) 一般財団法人 日本醤油技術センター (2025) しょうゆ試験法. [https://www.shoyu.or.jp/wp-content/uploads/2025/08/shoyu\\_shikenhou.pdf](https://www.shoyu.or.jp/wp-content/uploads/2025/08/shoyu_shikenhou.pdf) (2025年8月25日閲覧)
- 11) Engvall E, Perlmann P (1971) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8 (9) : 871-874
- 12) 加藤 愛、小谷 幸敏 (2016) 麹を添加した魚醤開発. *日本海水学会誌*, 70 (5), 303-307
- 13) Kurata, K., Dobashi, A., Kurihara, K., & Itagaki, Y. (2019) Characterization of Parvalbumin in 127 Species of Fish by Enzyme-linked Immunosorbent Assay Using Monoclonal Anti-frog Parvalbumin IgG Antibody and Serum IgE from an Allergic Patient. *Journal of Cookery Science of Japan*, 52(3), 147-158.
- 14) 宇多川 隆 (2012) 速醸魚醤の開発とその利用. *日本醸造協会誌* 107 (7), 477-484
- 15) 日本食品科学工学会 (1999) 食品産業におけるキチン・キトサンの機能性. *日本食品科学工学会誌* 46 (5), 356-360