

9 6 5 1 塩辛熟成中の微生物による乳酸蓄積に関する研究

助成研究者：藤井 建夫(東京水産大学 食品生産学科)
共同研究者：木村 凡(東京水産大学 食品生産学科)

1. 研究目的

塩辛はわが国の最も代表的な水産発酵食品であるが、その熟成過程における微生物の役割についてはほとんど分かっていない。われわれはこれまでに塩辛熟成中の旨味形成(アミノ酸生成)には細菌はほとんど関与していないことを証明し、微生物はむしろ塩辛の香気や保存性等に寄与しているであろうと推察しているが、この点を含めさらに微生物のポジティブな役割を解明したいと考えている。そこで本研究課題では、塩辛中の微生物の役割として、とくに保存性及び風味の点で重要と考えられる乳酸をはじめとする有機酸の生成について検討することとした。

2. 研究方法

スルメイカを用い、5種の塩辛(食塩10%添加)を調製、20℃で熟成を行い、その際のpH、生菌数(2.5%食塩加BPG培地[一般細菌用]および10%食塩加BPG培地[耐塩・好塩性細菌用])、VBN、TMA、有機酸などの変化を経時的に調べる。その際、(1)通常の塩辛のほかに、(2)抗生物質(クロラムフェニコールなど)を添加して細菌作用を抑制した塩辛を同時に調製し、20℃で熟成を行い、両試料間の化学成分の差異を明らかにする。

次に、前年度までに塩辛熟成中の代表菌群としてspeciesレベルまで同定してある保存菌株(*S.warneri*、*S.haemolyticus*、*M.varians*、*M.sedentarius*など)を用いて、イカエキス培地からの有機酸生成能について調べる。

3. 研究結果

抗生物質添加塩辛と非添加塩辛では仕込み後、生菌数、VBN、TMAのほか、乳酸をはじめ各種有機酸含量に顕著な差が認められた。抗生物質非添加の塩辛では乳酸が最大320mg/100g、酢酸が260mg/100g蓄積した。塩辛より優勢菌群として分離された*Staphylococcus*および*Micrococcus*の代表株6株はいずれもイカ塩辛エキス中で乳酸および酢酸を産生することから、これら菌群が塩辛での有機酸蓄積に重要であることが明らかとなった。

9 6 5 1 塩辛熟成中の微生物による乳酸蓄積に関する研究

助成研究者：藤井 建夫（東京水産大学 食品生産学科）
共同研究者：木村 凡（東京水産大学 食品生産学科）

1. 研究目的

塩辛はわが国の最も代表的な水産発酵食品であるが、その熟成過程における微生物の役割についてはほとんど分かっていない。著者ら¹⁾は、熟成中の塩辛の微生物作用と酵素作用を実験的に区別することにより、塩辛のアミノ酸（旨み）生成に対する微生物の関与について検討を行った結果、アミノ酸生成には微生物はほとんど関与していないことを明らかにした。しかしその際、微生物作用を抑制した実験区では塩辛特有のにおいがまったく生成しなかったことから、塩辛の風味に微生物の関与も無視できないことが示唆された。そこで本研究課題では、塩辛中の微生物の役割として、とくに保存性及び風味の点で重要と考えられる乳酸をはじめとする有機酸の生成について検討することとした。

2. 研究方法

イカ塩辛試料

供試イカ塩辛（赤作り）は、青森県で水揚げされたスルメイカを用い、伝統的製造法²⁾に準じて、合計5組（試料I～V）調製した。まずイカの外套筋と内臓を手で引き離し、外套筋を水洗、十分に水切り後、細切りした。そして、外套筋重量の5%の肝臓内容物を添加混合し、さらに外套筋および添加肝臓内容物との総重量の10%の食塩（国産化学1級）を添加した。これをホーロー製広口瓶に貯蔵し、20℃で熟成を行った。仕込み後は毎日1回十分に攪拌を行った。また、これらの試料とは別に、抗生物質(benzylpenicillin, streptomycin, chloramphenicol)非添加および添加の塩辛を2組（試料A, A', BおよびB'）調製した。試料I～IVは0, 14, 28, 42日目に、その他の試料は0, 7, 14, 21, 28, 35日目に、pH、有機酸、VBN、TMA量について調べた。

揮発性塩基窒素（VBN）およびトリメチルアミン（TMA）量

Conway法によった。

有機酸量

塩辛試料を過塩素酸抽出し、中和後希釈した溶液をHPLC有機酸分析システム（島津、カラム：Shim-pack SCR-102H）を用いて有機酸分析を行った。

供試菌株

平成6年度助成研究で分離同定された*S.warneri*、*S.haemolyticus*、*S.epidermidis*、*S.xyloso*、*M.varians*、*M.sedentarius*の6株を用いた。各菌株は10% NaCl添加BPG液体培地で30℃で48時間の前培養を行い、植菌実験に供した。

イカ塩辛エキスの調製

青森産の生スルメイカを用いてイカ塩辛を製造し、それと等量の10%食塩水を混和し、ストマッカーに2分間かけた後、6000rpm,15minの遠心分離を行い、その上澄液を100℃の湯浴中で2分間加温、冷却し再度8000rpm, 10minの遠心分離を行い、上澄液をメンブランフィルター(0.40 μ m, Dismic-25, Advantec Toyo)で濾過し、最後に滅菌済みメンブランフィルター(0.20 μ m, Dismic-25, Advantec Toyo)で濾過滅菌したものをイカ塩辛エキスとした。

培養方法および条件

あらかじめ前培養した各供試菌株培養液0.8mlをイカ塩辛エキス8mlを含んだ中型試験管に接種し、20℃で培養を行った。培養中は一日に一回、試験管スターラーで攪拌を行い、培養0、3、7日目に生菌数、pH、有機酸、VBN、TMA量について調べた。

生成乳酸の旋光性

ベーリンガー・マンハイム山之内のF-キットを用いた。

3. 結果および考察

塩辛熟成中の試料I～VにおけるpH、有機酸、VBNおよびTMA量の変化について調べた結果をTable 1に示した。

試料I～IVにおいてpHは熟成期間を通しpH5.8～6.1付近を推移し、熟成過程における経時的変化はほとんど見られなかった。同様に、試料VにおいてもpH値は6.0～6.4付近を推移し、大きな変動は見られなかった。

VBNは試料I～IVにおいて貯蔵14日目までに急激な増加(約7mg/100gから約40～50mg/100gまで)を示したが、その後は緩やかに増加傾向を示し、42日目には全試料において80mg/100gを越えていた。イカ塩辛において熟成と腐敗の境界は明瞭ではないが、宇野ら³⁾によると、イカ塩辛中のVBNが100mg/100gを超えると異味異臭がし、食用不適としている。本試料では42日目においてもVBNが100mg/100gまで達していなかったが、官能的評価からは42日目には既に食用不適と感じられ、可食域は28日目付近までと思われた。一方、試料Vについては、貯蔵14日目までに約50mg/100gに急激に増加する傾向は試料I～IVと同じであったが、試料Vはその後も大きく増加し、28日目には既に100mg/100gを超えていたが、官能的評価からは依然、可食域にあったと思われた。これらのことから、イカ塩辛の熟成と腐敗を

VBN量で判断することはかなり難しいと思われ、また各イカ塩辛試料によって可食期間もかなりの差が生じた。

次にイカ塩辛中の有機酸量については、試料や貯蔵日数により異なるが、乳酸、酢酸、ピルビン酸、リンゴ酸、コハク酸、ギ酸、イソ吉草酸などが存在することがわかった。

試料Ⅰ～Ⅳの有機酸量変化の増減を見ると、試料Ⅰ、Ⅲ、Ⅳは貯蔵28日目までに乳酸および酢酸がそれぞれ約40～55mg/100g、20～50mg/100gまで緩やかに増加する傾向が見られ、試料Ⅲ、Ⅳについては28日目以降はあまり増加しなかったが、試料Ⅰは42日目に乳酸が約200mg/100g、酢酸が約130mg/100gまで急激に増加した。一方、試料Ⅱにおいては、乳酸および酢酸は貯蔵28日目まで急激に増加し（それぞれ約310mg/100g、105mg/100g）、その後は両有機酸ともに緩やかに増加する傾向を示し、試料Ⅰ～Ⅳの中で、本試料が最も高い蓄積量を示した。試料Ⅴについては、7日目ごとに28日間有機酸量を測定したが、本試料では乳酸および酢酸はそれぞれ28日目には約250mg/100g、90mg/100g、100mg/100gに達し、試料Ⅱと同様の増加傾向を示した。

試料Ⅰ～Ⅴの結果から、イカ塩辛中に蓄積される乳酸、酢酸などの有機酸の増加時期がイカ塩辛中の生菌数の増加時期（前報⁴⁾）とがほぼ一致していることから、イカ塩辛中の有機酸がイカ塩辛中の微生物により生成されている可能性が推察された。乳酸および酢酸の蓄積率と前報⁴⁾のイカ塩辛中の経時的な微生物叢の変化とを比較すると、乳酸および酢酸の蓄積率の高い試料Ⅱ、Ⅴにおいては14日目には *Staphylococcus*属および *Micrococcus*属が優占菌群となった。一方、乳酸および酢酸の蓄積率の低い試料Ⅰ、Ⅲでは、*Acinetobacter*属、*Pseudomonas*属、*Moraxella*属などの桿菌が優占菌群となり、28日目以降に *Staphylococcus*属および *Micrococcus*属が優占菌群になっていることから、熟成早期に *Staphylococcus*属および *Micrococcus*属がイカ塩辛中の優占菌群となることから、乳酸および酢酸の高い蓄積率を示す大きな要因の一つであると推察された。しかし、試料Ⅳにおいては、14日目にはすでに *Staphylococcus*属および *Micrococcus*属が優占菌群となっているにもかかわらず、乳酸および酢酸の蓄積率は低いことから、イカ塩辛中の乳酸や酢酸の蓄積量の違いにはイカ塩辛中の微生物叢の差異以外の可能性も考えられた。

実際のイカ塩辛中において乳酸や酢酸などの有機酸がイカ塩辛中の細菌により生成されているものと考え、試料ⅡとⅢにおける有機酸量の差は、イカ塩辛中の細菌の代謝基質と考えられるグリコーゲン等の含有量が各試料を調製した際に用いたスルメイカにより異なっていたためにイカ塩辛中の細菌の代謝活動に影響を受け、グリコーゲン等の代謝産物としての各種有機酸量にも差が生じた可能性があった（なお、本研究では試料中のグリコーゲン量の測定は行っていないが、一般に魚介類中

のグリコーゲン量は栄養状態、季節や雌雄などの生理条件より著しく異なるとされており⁹⁾、試料Ⅱ、Ⅲに用いたスルメイカにおいてもグリコーゲン含有量に差があった可能性は十分に考えられる。

イカ塩辛中に検出される有機酸の種類は必ずしも一定でないが、乳酸および酢酸については、試料により含有量に差があるものの全ての試料から検出され、含有量もその他の有機酸に比べて比較的高く（貯蔵28日目に乳酸：約40～300mg/100g、酢酸：約20～100mg/100g）、経時的に増加する傾向が見られることからこれらの有機酸がイカ塩辛への風味付けなどに関与している可能性が考えられる。藤井ら¹⁾によるとイカ塩辛中の微生物は遊離アミノ酸の生成には関与せず、むしろイカ塩辛特有の風味への寄与の可能性を指摘しており、イカ塩辛中の微生物の役割を解明する上でもこの点についての検討は重要な課題であり、以下に検討することにした。

塩辛熟成中の有機酸生成に及ぼす微生物の関与を明らかにするため、抗生物質添加および非添加の試料について、有機酸量の変化を調べた結果をFig. 1に示した。抗生物質非添加の試料A、Bでは28日間の貯蔵で乳酸(約25mg/100gから220mg/100g以上)、酢酸(約6mg/100gから110mg/100g以上)が蓄積し、上記の試料Ⅰ～Ⅴの有機酸量変化の結果と同様の挙動を示した。一方、抗生物質を添加した試料(A' 試料およびB' 試料)においては抗生物質非添加試料とは異なり、乳酸(約25mg/100gから50mg/100gへ)と酢酸(約7mg/100gから17mg/100gへ)については経時的に大きな増加傾向は見られなかった。これらの結果から、塩辛熟成中の有機酸生成が微生物作用によっていることが明らかとなった。

そこで次に、塩辛中の微生物が実際に有機酸生成能を有していることを確認するために、塩辛より分離された*Staphylococcus*および*Micrococcus*属の代表株6株(*S.warneri*、*S.haemolyticus*、*S.epidermidis*、*S.xylosus*、*M.varians*、*M.sedentarius*)を用いて、塩辛エキス中での有機酸生成能を調べた。

その結果、Table 2（供試菌株：*S.warneri*、*M.varians*、*S.haemolyticus*）、Table 3（供試菌株：*S.epidermidis*、*S.xylosus*、*M.sedentarius*）に示すように、各供試菌株を接種したイカ塩辛エキスより乳酸ならびに酢酸の生成が認められた。なかでも、*S.haemolyticus*、*S.epidermidis*、*S.xylosus*、*M.sedentarius*については7日間の培養中に乳酸に関しては初めの値の約4倍量(約40mg/100mlから120mg/100ml)、酢酸に関しては初めの値の約2～9倍量(約8mg/100mlから17mg/100ml～約7mg/100mlから63mg/100ml)まで増加させる能力を有していた。

なお、これら代表菌株によって生成された乳酸について旋光性を測定したところ、*Staphylococcus*属由来の乳酸の旋光性は供試菌株により異なり、*S.warneri*はDおよびL型を、*S.haemolyticus*はD型を、*S.epidermidis*および*S.xylosus*はL型であった。一方*Micrococcus*属由来の乳酸は全てL型であった。

以上の結果より、イカ塩辛中の優占菌株は、乳酸や酢酸などの有機酸の生成能を有しており、これらの微生物により実際のイカ塩辛の熟成過程で乳酸や酢酸などの有機酸が生成・蓄積されるものと考えられる。

4. 今後の課題

本研究の結果、塩辛熟成中に蓄積される乳酸、酢酸などの有機酸は塩辛中の細菌によって生成されることが明らかとなったが、生成される有機酸の種類や量は試料によってかなり異なった。その原因には、原料や付着微生物の違いのほか、熟成中の攪拌条件なども関係していると考えられる。また乳酸や酢酸は単にpHを低下させるだけでなく、抗菌作用を有することが知られている⁶⁾ので、それらの腐敗・食中毒微生物に対する抑制効果も期待される。

5. 文献

- 1) 藤井 建夫, 松原 まゆみ, 伊藤 慶明, 奥積 昌世: いか塩辛熟成中のアミノ酸生成における微生物の関与について. 日水誌, 60, 265-270 (1994).
- 2) 藤井 建夫: "塩辛・くさや・かつお節", 恒星社厚生閣, 東京, 1992, pp. 33-34.
- 3) 宇野 勉, 坂本 正勝: 水産発酵食品に関する試験 第4報, 市販イカ塩辛の保蔵性について. 北水試月報, 31, 15-21 (1974).
- 4) 藤井建夫, 木村 凡: いか塩辛熟成中の耐塩性および好塩性細菌フローラの検討. 平成6年度助成研究報告書(Ⅱ), (ソルト・サイエンス研究財団), 341-353 (1996).
- 5) 坂口 守彦: "魚介類のエキス成分", 恒星社厚生閣, 東京, 1988, pp. 50.
- 6) 松田 敏生, 矢野 俊博, 丸山 晶弘, 熊谷 英彦: 有機酸類の抗菌作用—各種pHにおける最小発育阻止濃度の検討. 日水誌, 41, 687-702 (1994).

Table 1. Changes in organic acid, VBN and TMA contents, and pH during the fermentation of *shioikara* (sample I~V)

Organic acid	R i p e n i n g p e r i o d (d a y s)																		
	Sample I			Sample II			Sample III			Sample IV			Sample V						
	0	14	28	42	0	14	28	42	0	14	28	42	0	7	14	21	28	35	
CIT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYR	ND	ND	2.9	ND	3.7	ND	ND	ND	2.0	ND	5.3	ND	ND	1.5	ND	ND	ND	1.3	ND
MAL	3.5	5.4	2.7	3.4	4.8	3.5	1.7	1.3	4.6	7.1	7.4	7.4	3.2	2.1	3.4	4.1	1.7	ND	ND
SUC	10.8	12.5	11.5	6.1	11.8	11.3	9.1	13.4	12.5	14.1	15.1	21.0	18.1	12.4	11.5	12.4	6.8	7.5	23.2
LAC	33.5	48.4	55.7	204.5	44.2	50.3	307.0	320.6	25.6	40.6	50.0	43.4	44.6	38.5	40.9	61.9	225.5	250.1	264.3
FOR	1.2	2.7	3.0	3.7	1.1	2.9	4.5	0.8	1.3	3.3	5.2	4.9	4.8	1.5	3.3	4.0	6.6	5.7	3.3
ACE	11.3	14.3	48.6	129.0	10.5	18.7	105.5	146.3	10.1	12.4	18.6	45.7	66.0	11.6	11.7	17.8	74.9	90.5	262.3
LEV	ND	ND	ND	ND	ND	ND	43.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYG	4.2	47.2	88.2	126.1	ND	22.4	50.3	62.9	23.3	134.0	216.4	328.1	247.0	3.6	19.9	65.9	86.7	99.1	143.2
PRO	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISB	ND	ND	ND	2.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISV	ND	ND	3.0	15.9	ND	ND	2.7	5.8	ND	ND	ND	3.0	4.8	ND	ND	ND	2.1	5.0	14.9
VAL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total	64.5	130.5	215.6	490.7	76.1	109.1	480.8	551.1	77.4	213.5	317.7	453.5	388.5	71.2	90.7	166.1	404.3	459.2	711.2
pH	5.86	5.91	5.86	6.12	5.90	6.10	5.96	6.14	6.04	5.94	6.04	6.05	6.00	6.05	6.03	6.05	6.19	6.39	NT
VBN	7.10	48.04	57.66	87.40	8.22	40.93	69.71	87.44	5.60	56.86	74.08	81.20	87.92	6.40	35.24	52.40	80.42	109.18	NT
TMA	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.42	8.32	9.90	11.89	15.72	NT

a, 2.5%NaCl-BPG medium; b, 10%NaCl-BPG medium.

mg/100g : for organic acid, VBN and TMA contents.

Abbreviations: PHO, phosphoric acid; CIT, citric acid; PYR, pyruvic acid; MAL, malic acid; SUC, succinic acid; LAC, lactic acid; TOR, formic acid; ACE, acetic acid; LEV, levurinic acid; ISB, isobutyric acid; PRO, propionic acid; ISV, isovaleric acid; BUT, butyric acid; VAL, valeric acid; ND, not detected; NT, not tested.

Table 2. Changes in organic acid, VBN and TMA contents, and pH in *shiokara* extract inoculated with several strains

days	Control			<i>S. warneri</i>			<i>M. varians</i>			<i>S. haemolyticus</i>		
	0	3	7	0	3	7	0	3	7	0	3	7
Organic acid												
CIT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYR	5.8	4.1	3.7	4.5	ND	ND	4.1	ND	ND	4.9	ND	0.8
MAL	4.8	3.7	4.2	4.0	3.0	3.0	3.7	3.1	3.8	3.6	4.0	3.5
SUC	12.6	10.9	10.9	9.7	11.9	12.0	9.4	8.9	10.5	9.5	11.4	11.9
LAC	40.1	35.1	34.2	42.0	83.8	93.1	38.4	74.3	108.8	38.0	141.5	129.5
FOR	1.9	1.7	1.7	1.5	0.9	0.7	1.5	1.0	0.9	1.6	2.4	2.3
ACE	8.1	8.7	9.6	7.2	14.4	16.9	7.9	16.1	24.9	7.6	22.1	28.4
LEV	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYG	7.1	8.1	8.8	10.8	11.8	13.4	10.1	12.0	15.1	10.6	12.8	13.3
PRO	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISB	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISV	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VAL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total	47.4	64.1	69.8	82.0	134.6	187.9	66.4	142.3	168.8	75.5	152.5	161.1
CFU/ml	ND	ND	ND	6.0×10^7	1.8×10^8	1.7×10^8	5.8×10^7	2.0×10^8	2.0×10^8	9.9×10^8	3.3×10^8	3.5×10^8
pH	5.90	5.81	5.90	5.81	5.81	5.80	5.81	5.78	5.79	5.81	5.80	5.84
VBN	15.05	18.20	16.10	12.95	19.25	18.90	13.65	17.50	17.85	12.25	26.60	26.95
TMA	0.70	1.75	2.10	3.15	2.45	2.80	1.75	2.10	2.45	1.40	2.10	2.80

mg/100ml: for organic acid, VBN and TMA contents.

Abbreviations: PNO, phosphoric acid; CIT, citric acid; PYR, pyruvic acid; MAL, malic acid; SUC, succinic acid; LAC, lactic acid;

FOR, formic acid; ACE, acetic acid; LEV, levurinic acid; PYG, pyrogulutanic acid; PRO, propionic acid; ISB, isobutyric acid;

BUT, butyric acid; ISV, isovaleric acid; VAL, valeric acid; ND, not detected.

Table 3. Changes in organic acid, VBN and TMA contents, and pH in *shiokara* extract inoculated with several strains

days	Control			<i>S. epidermidis</i>			<i>S. xyloso</i>			<i>M. sedentarius</i>		
	0	3	7	0	3	7	0	3	7	0	3	7
Organic acid												
CIT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYR	15.7	22.1	22.6	21.2	ND	ND	18.3	ND	ND	20.1	ND	ND
MAL	4.2	6.8	7.6	5.4	1.1	0.8	5.5	1.0	1.2	4.2	3.7	3.8
SUC	5.9	8.0	8.0	7.4	8.4	12.1	6.3	9.2	12.6	6.9	7.6	10.0
LAC	15.2	20.3	20.8	31.2	94.8	114.8	21.8	88.9	81.1	28.1	105.7	99.2
FOR	0.9	ND	1.0	0.8	ND	ND	0.9	2.0	2.2	0.7	0.8	1.4
ACE	5.5	6.9	9.1	8.9	26.2	53.1	7.2	33.4	63.2	7.9	26.0	37.2
LEV	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PYG	ND	ND	ND	7.1	4.1	7.1	6.4	7.8	8.5	7.6	8.7	9.5
PRO	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISB	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISV	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VAL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total	137.5	184.9	194.8	195.4	234.4	308.7	165.5	254.7	292.3	182.4	266.1	275.9
CFU/ml	ND	ND	ND	2.0×10 ⁷	4.5×10 ⁸	4.3×10 ⁸	3.0×10 ⁷	0.8×10 ⁸	8.4×10 ⁸	4.3×10 ⁷	5.6×10 ⁸	2.7×10 ⁸
pH	5.84	5.84	5.82	5.87	5.65	5.68	5.88	5.71	5.72	5.81	5.64	5.68
VBN	7.50	8.05	5.60	7.35	12.10	14.53	7.70	13.30	14.88	8.40	8.75	13.48
TMA	0.70	2.10	1.05	0.70	1.40	1.05	0.53	2.90	2.98	0.70	3.85	2.28

mg/100ml: for organic acid, VBN and TMA contents.

Abbreviations: PNO, phosphoric acid; CIT, citric acid; PYR, pyruvic acid; MAL, malic acid; SUC, succinic acid; LAC, lactic acid;

FOR, formic acid; ACE, acetic acid; LEV, levurinic acid; PYG, pyrogulutanic acid; PRO, propionic acid; ISB, isobutyric acid;

BUT, butyric acid; ISV, isovaleric acid; VAL, valeric acid; ND, not detected.

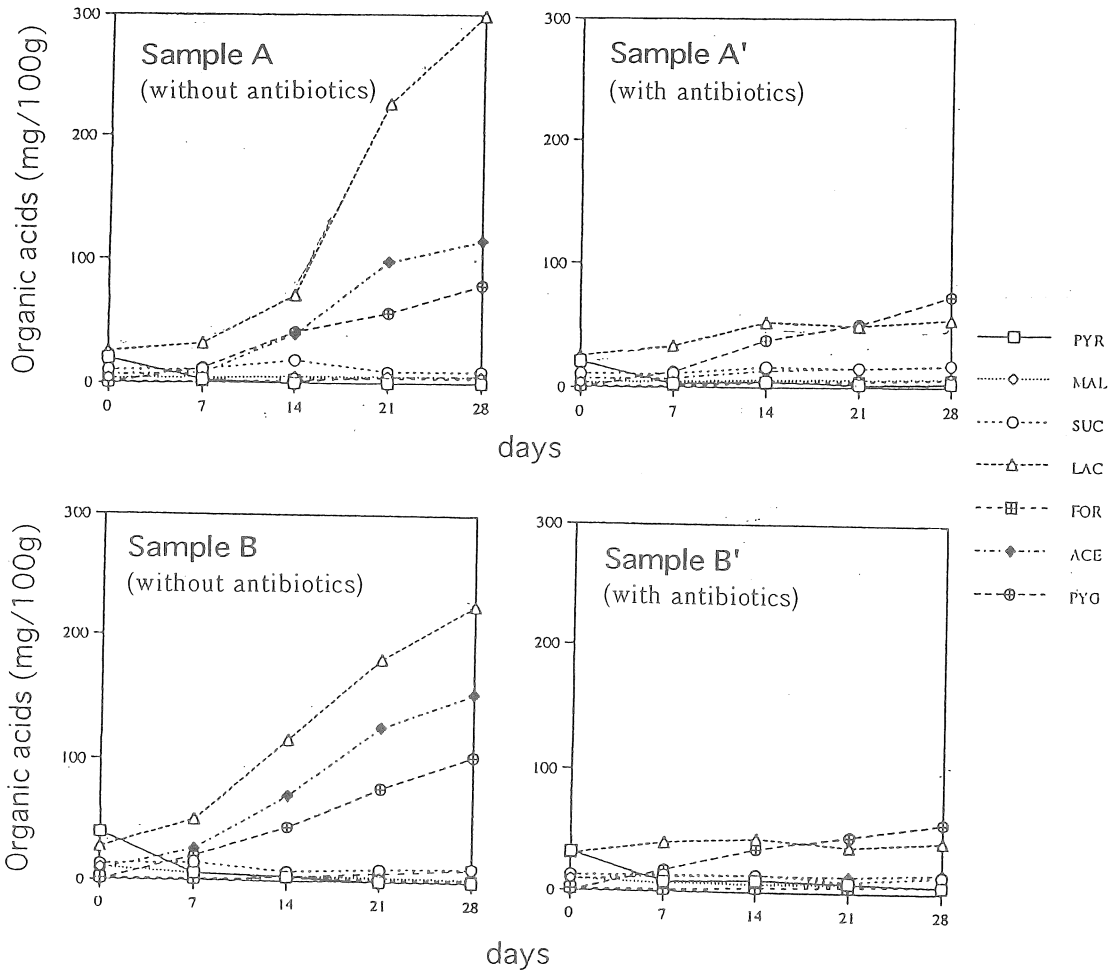


Fig.1. Changes in organic acid during the fermentation of *shiokara* with/without antibiotics (Samples A, B, A' and B')

Accumulation of Lactic Acid by Bacteria during Fermentation of Squid *Shiokara*

Tateo Fujii and Bon Kimura

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries

Squid *shiokara* is the most popular fermented seafood in Japan. Microbial roles during the ripening of *shiokara* however have not been well elucidated. Previously we studied on the microbial contributions on the ripening process and concluded that microorganisms which appeared in *shiokara* played little role for the formation of free amino acids, while they were suggested to contribute to the formation of *shiokara* flavor.

In the present study, we studied the accumulation of organic acids such as lactic acid, etc., which might contribute to the preservability and taste of *shiokara*, during the ripening of *shiokara* with/without antibiotics and found that accumulation of these acids occurred only in the *shiokara* without antibiotics. We also make clear that some representative strains among *Staphylococcus* and *Micrococcus*, dominant bacteria during *shiokara* fermentation, produced lactic acid. Further studies on the effects of conditions on microbial production of these acids are now in progress.