

「微生物の利用」を教材とした科目「水産食品製造」の効果的な学習指導方法の研究について

立 高等学校 (水産)

## 1 はじめに

本校は、平成17年度に御宿高校と統合し、総合学科の高校として、再スタートした。筆者が所属していた勝浦高校水産製造科の教育内容は、総合学科の中では、「食品科学系列」に継承されることとなった。

「食品科学系列」は御宿高校の生活デザイン科の食物分野の教育内容も取り入れており、水産科と家庭科の教員が担当している。水産科の分野については、2年次・3年次において、「水産食品製造」が4単位、「水産食品管理」が4単位、「食品製造実習(学校設定科目)」が2単位それぞれ設定されている。「水産食品製造」は水産食品分野の中心科目として、位置づけられており、筆者も水産製造科の頃から、一貫して授業を担当してきた。

一方、主題に示した「微生物」と食品の関わりはきわめて深い。食中毒や食品の腐敗という観点からは、微生物は「悪玉」である。しかしながら、伝統的な発酵食品は、微生物の有効な利用の産物であるし、最近のバイオテクノロジーの分野も微生物の利用なしには語れない。

伝統的な発酵食品は、「水産食品製造」における第7章「水産発酵食品」の中で塩辛、なれずし、魚しょうゆ、漬け物類等が紹介されている。

バイオテクノロジーの分野では、「水産食品管理」における第4章「水産食品管理実験」第3節「化学分析」の中で「機器分析」の1つとして、バイオセンサーが紹介されている。

本研究では、「善玉」としての微生物に着目し、バイオテクノロジーの先駆けとなった第1世代といえる「伝統的発酵食品」と現代のバイオテクノロジーの世代として「バイオセンサー」を教材として取り上げ、その驚異なる微生物のパワーを生徒にわかりやすく効果的に指導することを目的とした。

## 2 研究方法

### (1) 発酵食品に関する教材研究

「くさや」「なれずし」を取り上げ、加工業者への調査や参考書・インターネット等での資料集にあたる。

### (2) バイオセンサーに関する教材研究

東洋大学生命科学部生体機能材料研究室および東京海洋大学海洋科学部応用微生物研究室から、実験器具装置の取扱い等教材研究にあてる。

### (3) 生徒への授業指導法の研究

発酵食品の効果的な授業研究とバイオセンサーについては、演示実験と生徒実験の効果的指導方法の研究を行なう。

### (4) 授業評価と反省

生徒に授業アンケートを実施し、相互評価より本研究の総括をする。

## 3 研究内容

### (1) 発酵食品に関する教材研究

#### ア くさやについて

くさやは主に伊豆諸島で作られる魚の干物の1つで、独特のにおいと風味をもち、普通の干

物より腐りにくい特徴がある。くさやの原料となる魚肉自体は発酵していないので、乾製品のうち、塩干し品に分類されることが多いが、魚を漬け込む「くさや汁」が発酵しており、その強烈なおいから「くさや」という名前がついたのも、うなずける。

そもそもくさやの発祥については、江戸時代に伊豆諸島では幕府に塩を上納していたが、その取り立ては厳しく、島では塩が大変な貴重品となり、魚の塩干し品の製造の際にも塩を節約するためにやむなく塩水を何度も繰返し使用することから始まったといわれている。

#### (ア) くさやの加工場

伊豆諸島では、新島、大島、八丈島、三宅島、式根島、神津島の6島で、この他に伊東、枕崎、父島、母島でも作られている。

各地における加工場の数は、昭和50年頃では、新島が28軒、八丈島が25軒、大島が18軒の順で多く、他はいずれも5軒以下である。加工場は、家族中心の経営形態で、1加工場の従業員数は多くても10名程度である。

#### (イ) くさやの原料

アオムロ、ムロアジ、トビウオが主で、サバを用いることもある。

ムロアジは、暖海性で、わが国の南部から南方海域に広く分布し、棒受網で漁獲される。マアジよりも体の断面が丸く、背びれ、しりびれの後に1つずつ小離ひれを持つ。

ムロアジの肉は締まりがあまりないが、塩干し品にすると、肉に弾力が生じ、美味となる。

一方、トビウオは伊豆諸島の大切な財源になっており、春先、産卵のため島に近づくの漁獲する。脂質が少なく、淡泊な味だが、タンパク質含量はかなり高い。

#### (ウ) くさやの製造法

代表的な例として、新島の製造法を記す。

- a 原料魚を開いて内臓を除去する。トビウオは背開き、他は腹開きする。
- b ざるに移し、水槽中で十分に水洗、血抜きを行なう。これには井戸水を用い、所要時間は5～10分程度である。
- c 水切りした後、独特のくさや汁に浸漬する。汁と魚の比率は7：3位がよく、5：5になると液が疲れ、良質のくさやができないといわれている。  
一般に汁のボーメ6～8度で、10～20時間程度浸漬される。塩分の調節には、水洗時の最初のおけの水を取り換えずに繰返し用いたものに、食塩を高濃度に加えて保存しておいたものを用いる。
- d 魚体をざるに取り出して汁を滴下後、水洗する。井戸水を満たしたおけを3個用意しざるのまま、その中で魚を泳がせるようにして、順におけを移していく。  
所要時間は、合計で30秒程度である。
- e 魚体の背を下にして、竹のすのこにならべて天日乾燥、または通風乾燥する。  
天日乾燥で2～3日、通風乾燥では22～24で48～60時間位であるが、軟らかい製品の場合には、乾燥時間を短縮する必要がある。

#### (エ) くさやの保存性と抗菌性

くさやと通常の塩干魚の保存性を比較すると、トリメチルアミンおよび細菌数の変化（鮮度指標）については、明らかに塩干魚の方が著しく増加している。

くさや汁中の優勢菌群であるCorynebacteriumの産生する抗生物質とらせん菌の働きにより絶えずpHが8.5という高い値に維持されているためであるといわれている。

くさや汁の微生物群が悪玉菌である腐敗細菌や食中毒菌の侵入と増殖を抑えていることは確かなことである。

(オ) くさやの製造工程の写真

伊豆大島にある「やまよ商店」のホームページより抜粋

		
<p><b>(ア) 原料入荷</b> 青むる むろあじ とびうお</p>	<p><b>(イ) 開く</b> 鮮度の良いうちに開いて内蔵を除去する青むる，ムロアジは腹開きトビウオは背開き</p>	<p><b>(ウ) 洗い</b> 清水で充分洗い血抜きをする</p>
		
<p><b>(エ) 水切り</b> カゴをたてかけて水分をよくとる</p>	<p><b>(オ) 漬け込み</b> 秘伝のくさや汁に，一匹ずつ丁寧につけ込む。このタンクは液の温度が一定になるよう工夫がしてある</p>	<p><b>(カ) 取り出し</b> 一晩漬けた後タンクから取り出しくさやの汁を良くとる</p>
		
<p><b>(キ) 洗い</b> タンクから取り出した魚を一番，二番，三番タルで順番に洗っていく。原液が不足するので1番タルの液を補充する</p>	<p><b>(ク) ならべ</b> せいろ(乾燥用の網)に魚の身をなでながら丁寧に並べる</p>	<p><b>(ケ) 乾燥</b> 天日干しで二日，冷風乾燥機で摂氏22～25度で約30～40時間で製品になる</p>

イ なれずし

なれずしは魚を，多くは塩蔵した後，米飯に漬け込み，その自然発酵によって生じた乳酸などによって酸味をつけると同時に保存性を付与したもので，ふなずし，さばなれずし，はたはたずし(いずし)など各種の製品が知られている。

なれずしの起源は相当古く，稲が大陸から渡来してきた頃に一緒に伝わったと考えられている。最も古い形態と考えられている「ふなずし」では，米飯は単に漬け込みの材料で，食用にするのは魚だけである。なれずしは元々魚の保存手段であったわけで，「さばなれずし(生成れ)」のよ

うに少しなれた頃に味を楽しみながら米飯も一緒に食べるようになったのは室町時代に入ってからのもので、さらに麴を添加して熟成を促進させた「いずし」が作られるようになったと考えられている。その発展過程から、「ふなずし」を前期なれずし、「さばなれずし」や「いずし」を後期なれずしと分類することもある。

ここでは、「いずし」として知られる「ハタハタずし」について研究する。

#### (ア) ハタハタずし

ハタハタずしは秋田県の特産品で、ハタハタを原料として作られるいずしの一種である。秋田地方では、かつては種々の魚を用いていずしが作られてきたが、現在ではハタハタ以外はほとんど用いられていない。秋から冬にかけて製造されるが、大部分は正月向けに11～12月に作られる。なお、類似のいずしは、東北地方や北海道で広く作られている。

ハタハタずしは秋田地方では古くから各家庭で作られていたが、工場規模でも生産が行なわれており、現在、県内に6～7軒の製造業者がある。

#### (イ) ハタハタずしの製造法

地域によってかなり異なるが、次に代表例を示す。

- a ハタハタの頭と内臓をとり、20%相当量の食塩をかけて4～5日間置く。
- b 水洗後、約2昼夜、酢に漬け、塩を抜くと同時に身を柔らかくする。
- c 米飯を炊き、蒸らす時に米飯とほぼ等量の麴を入れて混和した後、再び蒸らす。この時、ゆっくりと冷ますようにする。
- d 米飯が冷めてから、桶に(イ)と(ウ)を6対4位の割合で交互に置き、重石をして2～3週間位漬け込む。色彩りと香りをつけるためニンジンとフノリを入れる。

#### (ウ) いずしとボツリヌス中毒

ボツリヌス中毒は発生頻度が少ないにもかかわらず、死亡率のきわめて高い食中毒であり、わが国では昭和26年以降約100件発生しており、患者数約500名でそのうち114名が死亡している。この食中毒はわが国では原因食品の90%以上がいずしであり、原因菌の大部分がE型菌であるという特徴がある。

いずしに集中してボツリヌスE型菌による食中毒がおこるか、その条件を列挙する。

- a E型菌によって汚染される可能性のある食品である。
- b 加熱しないで食べる食品である。ボツリヌス毒素は易熱性で、80℃に加熱すれば破壊するから、たとえ食品中に毒素が生産されても加熱すれば安全である。
- c 製造工程に加熱工程のない食品である。
- d ボツリヌス菌が繁殖しやすい食品である。ボツリヌス菌は嫌気性細菌あり、重石を置き、タンパク質や糖分、水分に富むいずしは、格好の繁殖しやすい食品である。
- e ボツリヌス菌の発生を阻害するような物質が含まれていない食品である。食塩が多量に含まれていたり、pHが低いような食品では、たとえ菌の汚染を受けても増殖できない。
- f 食べるまでにボツリヌス菌が増殖して、毒素を生成するような時間経過のあるような食品である。刺身、たたき、にぎりずしなどは鮮度が低下すれば食品にならないので、ボツリヌス菌の汚染を受けても、毒生成の時間的余裕はないであろう。

それでは、ボツリヌス中毒の防止法はどのようにすればよいか。

魚の入らないいずしでは、中毒が発生していないこと、魚肉の水さらしの際、毒化した可能性が最も大きいと考えられている。最初から水さらしを省略したり、魚肉を酢でしめたり、塩漬を十分に行なっていると中毒事件は起きていない。また、水さらしの温度も重要で10℃以下で毒化しないことがわかっている。

魚肉を水さらししないで、漬け込めば安全かというと必ずしもそうとはいきれない。ポツリ又ス菌が増殖する前に乳酸発酵が起こり、pHが5.0以下に低下すれば安全のようである。

従って、魚肉を塩漬けしたり、酢でしめたりして、菌が発育できないようにするか、乳酸発酵を急速に起こさせる必要がある。

(ハタハタずしの製造工程)

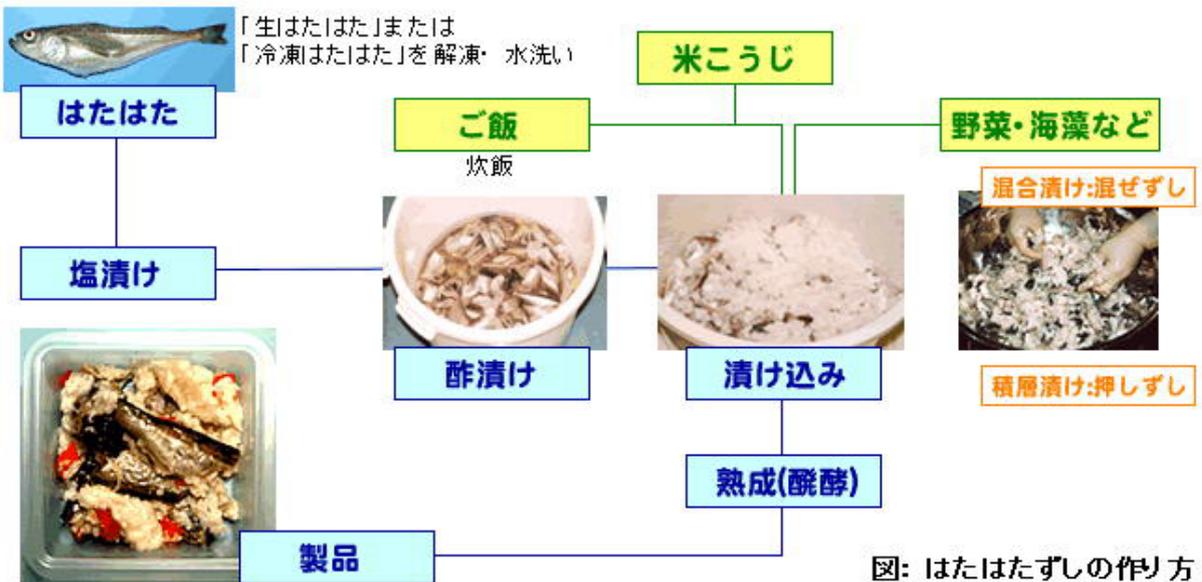


写真1 原料ハタハタ



写真2 頭・内臓調理



写真3 にんじん・ふのり添加



写真4 米こうじ添加・塩蔵

## (2) バイオセンサーに関する教材研究

われわれの身のまわりには様々なセンサーがある。ルームクーラーの温度調節機構や自動ドアに付けられる自動開閉機構には温度や光、音、圧力などの物理量を計測するセンサーがセットされている。センサーは目的のものを認識する部位(レセプター)とこれを何らかの電気信号に変換する部位(トランスデューサー)とから構成されている。

一方、生体には優れた分子識別能力があり、たとえば、舌は甘い、辛いを識別を瞬時にして行なう。これを利用したものがバイオセンサーで、生体成分あるいは組織や細胞そのものをレセプターとしている。最もよく利用されているものにレセプターに酵素を用いた酵素センサーがある。これら酵素も微生物から精製され、試薬として容易に入手できる。

今回は、グルコースセンサーについて、東洋大学生命科学部大熊研究室にて実験器具操作等の教材研究をさせていただいた。

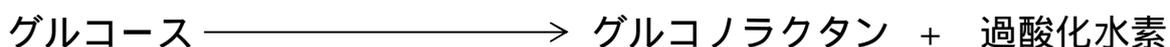
### ア グルコースセンサー

グルコースは生体内では、血糖として存在し、重要な単糖類である。しかしながら血糖値が高すぎると、様々な生活習慣病の原因となっており、血糖値の測定は医療上重要である。最近では、簡便な酵素センサーであるグルコースセンサーが商品化されている。

グルコースは、固定化グルコースオキシダーゼ膜と酸素電極または過酸化水素電極とから構成される。グルコースは、酵素反応によって、グルコノラクトンと過酸化水素を生成する。過酸化水素電極を用いれば、この生成した過酸化水素を定量して、グルコースを算出することができる。

酸素電極を用いる場合は、酵素反応の際に酸素が消費されるのを利用して、酸素消費量を測定してから、グルコースを算出することができる。いずれも直流電流値に変換して計測する。

## グルコースオキシダーゼ



## O 2

### 過酸化水素電極を用いた計測の手順

- (ア) ろ紙にグルコースオキシダーゼ水溶液を滴下して、染み込ませる。
- (イ) 過酸化水素電極の先端に(ア)のろ紙をかぶせ、その上に透析膜でおおい、オーリングで固定する。
- (ウ) 過酸化水素電極、マイクロチューブポンプ、電圧増幅装置、レコーダー、廃液ビーカーを連結し、フローシステムを作る。
- (エ) 計測したい試料液を一定量、マイクロシリンジではかりとり、マイクロチューブ内に注入する。
- (オ) 試料液が固定化酵素膜が装着されている電極先端を通過した後、レコーダーに電流値のピークが記録される。
- (カ) ピークの長さを測り、電流値を算出する。
- (キ) 検量線からグルコース濃度を算出する。



写真1 過酸化水素電極

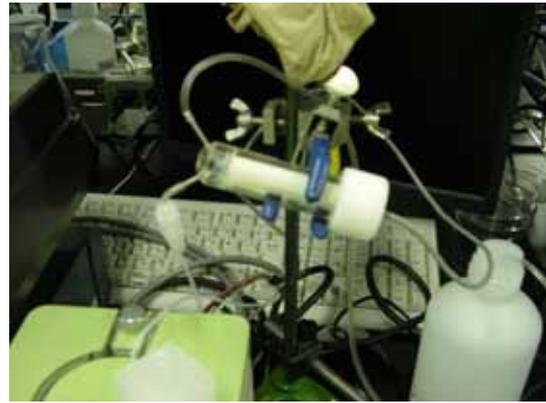


写真2 グルコースセンサーシステム

### イ 鮮度計測用酵素センサー

#### (ア) K値(魚類生鮮度判定恒数)について

魚肉, 畜肉の鮮度判定法にK値がある。筋肉中のATP関連化合物は, 死後, 嫌氣的に次のように分解される。



鮮度低下とともにATP(アデノシン3リン酸), ADP(アデノシン2リン酸), AMP(アデニール酸)がすみやかに分解され, HxR(イノシン)やHx(ヒポキサンチン)の蓄積が認められる。そこで, 次式に示されるようなK値で鮮度を表示することが提唱された。

$$\text{K 値}(\%) = \frac{\text{HxR} + \text{Hx}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}} \times 100$$

その後, 詳細な追試の結果, ATP, ADP, AMP, のIMP(イノシン酸)への移行がきわめてすみやかであることが明らかにされたので, 次式のような鮮度指標Ki値が提案され, 後述するKi値計測用酵素センサーシステムが開発された。

$$\text{KI 値}(\%) = \frac{\text{HxR} + \text{Hx}}{\text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}} \times 100$$

#### (イ) 鮮度計測用酵素センサーについて

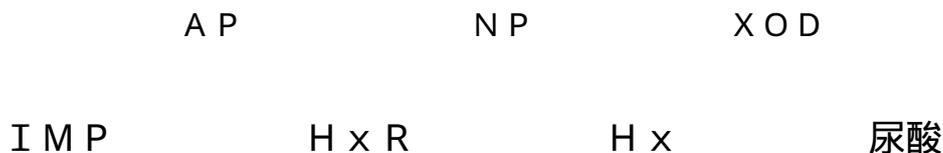
K値を測定するには, 魚肉の抽出液中のATPとその分解生産物をATP+ADP+AMP+IMPの画分とHxR+Hxの画分とに分け, 両者の250nmにおける吸光値を測定する。各画分の吸光値は濃度に比例するので, 吸光値を用いてK値を計算することができる。

しかしながら, この測定方法は, 技術と時間を要するため, 水産加工や食品流通業界等現場には即していない現状であった。

そこで, 上述したように, 鮮度指標としてKI値を提案し, IMP, HxR, Hxの3成分を迅速かつ簡便に計測可能な酵素センサーが開発された。

(測定原理)

IMPは以下の酵素反応によって、尿酸にまで分解される。



O<sub>2</sub>

IMPはAP(ヌクレオチダーゼ)によって、HxRに分解され、HxRはNP(ヌクレオシドホスホリラーゼ)によって、Hxに分解される。さらにHxはXOD(キサンチンオキシダーゼ)によって、尿酸に分解される。この際、酸素が消費されるので、酸素電極で電流値として計測する。

鮮度計測用センサーは、IMPセンサー、HxRセンサー、Hxセンサーが必要となる。すなわち、IMPセンサーはトリアエチルセルロース膜上にAP+NP+XODを固定化し、酸素電極に装着する。HxRセンサーは同じ膜上にNP+XODを固定化し、酸素電極に装着、Hxセンサーは同じ膜上にXODのみを固定化すればよい。

センサーシステムに、IMP、HxR、Hxを含有する標準溶液を注入する。Hxの濃度はHxセンサーの電流減少値から直接求められる。一方、HxR濃度はHxRセンサーの電流減少値とHx濃度に相当する電流減少値の差として求められる。同様に、IMP濃度はIMPセンサーの電流減少値からHxRおよびHx各濃度に相当する電流減少値を差し引いた値から求められる。

本センサーシステムでは、さらにIMP、HxR、Hxの3成分に基づいた図形で鮮度を表示し、1歩進んだ品質評価が試みられた。

(3) 生徒への授業指導法の研究

研究授業への実践

- ア 実施日 平成20年10月21日(火)2時限 9:55~10:45
- イ 授業科目 3年次「総合的な学習の時間(水産食品製造課題研究)」
- ウ 生徒数 3年次食品科学系列選択生徒9名
- エ 単元名 水産食品とバイオセンサー
- オ 単元目標 生体機能を利用して化学物質を感知する検知器をバイオセンサーというが、最近では、食品成分の分析や食品の品質効果、安全性効果、工場廃水の監視など食品産業に役立っている。  
ここでは、バイオセンサーの構成システムおよび水産食品への利用(グルコースセンサーや魚類鮮度計測用センサーなど)についての基礎的知識や技術をパワーポイントや実験をとおして、理解させる。
- カ 単元の指導計画 (5時間)
- (ア) バイオセンサーと機器分析 (1時間)
  - (イ) グルコースセンサーのしくみ (1時間)
  - (ウ) 魚類鮮度計測用センサーのしくみ (2時間) 本時・・・2時間目
  - (エ) ふぐ毒センサーのしくみ (1時間)

キ 本時の学習指導

(ア) 目標

- ・ 魚類鮮度の低下のしくみを理解させる。
- ・ 魚類鮮度判定(化学的方法)に使用されるK値について、理解させる。
- ・ K値計測用バイオセンサーのしくみを理解させる。
- ・ 商品化されているバイオフレッシュのしくみと測定法を理解させる。

(イ) 展開

過程	学習活動	指導上の留意点	評価
導入 5分	・ 化学的鮮度判定法の1つであるK値について、復習する。	・ K値がATP関連化合物に注目した鮮度指標であることを理解させる。	各用語の意味を理解しているか。
展開 40分	・ K値の近似値としてのKI値の意義について、学習する。  ・ KI値計測用バイオセンサーのしくみと原理を学習する。	・ 魚の死後、ATPはかなり速くADP、AMPに変化消失することからATP、ADP、AMPの3成分を除外し、IMP、HxR、Hxの3成分のみで算出されるKI値の有効性について、理解させる。  ・ IMP、HxR、Hxの3成分を計測するバイオセンサーの構成システムを理解させる。 ・ これらのバイオセンサーは、酵素を固定化したトリアセチルセルロー	KI値がK値の近似値として有効であることを理解しているか。  固定化酵素膜と酸素電極の構成システムを理解している

	<ul style="list-style-type: none"> <li>・商品開発されている「バイオフィレッシュ」の計測原理と計測方法を学習する。</li> <li>・「バイオフィレッシュ」の計測実験を体験する。</li> </ul>	<p>ス膜を酸素電極に装着させ、それぞれの酵素反応からの酸素の消費量を計測し、基質である3成分を算出できる原理を理解させる。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・実用化されているKI値計測用センサー「バイオフィレッシュ」の構成システムと計測方法の実際を体感・理解させる。</li> <li>・食品産業界でK値が実際にどのように有効に使用されているか、紹介する。</li> </ul>	<p>か。</p> <p>実験に際して、注意事項を守り、積極的に参加しているか。</p>
まとめ 5分	<ul style="list-style-type: none"> <li>・魚類鮮度判定にバイオテクノロジーが有効に活用されていることを認識する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・バイオセンサーに装着される酵素も微生物から抽出・精製されたものであることを理解させる。</li> </ul>	<p>KI値計測用バイオセンサーの概要を理解できたか。</p>



写真1 バイオフィッシュ前面



写真2 固定化酵素カラム



写真3 バイオフィッシュフローシステム



写真4 K I 値の説明



写真5 魚肉液抽出 (あじの3枚おろし)

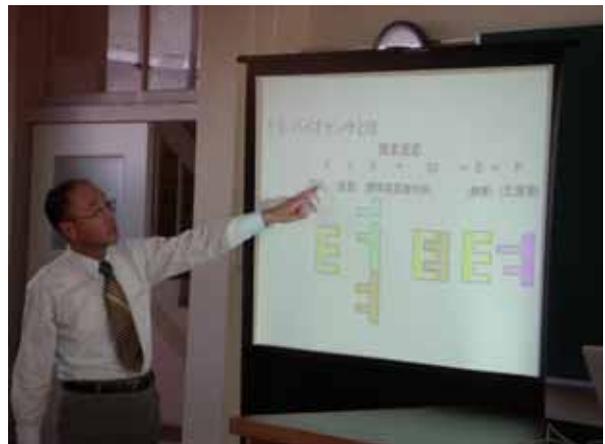


写真6 酵素の説明

(4) 授業についてのアンケート結果について

- ア くさや・なれずしの製造方法について，理解できた。(80%)
- イ 伝統的発酵食品と微生物の関わりが理解できた。(72%)
- ウ 官能的魚類鮮度判定法について，理解できた。(92%)
- エ 魚類鮮度判定恒数K値とその近似値KI値について，理解できた。(16%)
- オ KI値計測用バイオセンサーについて，理解できた。(8%)
- カ 生体反応における酵素の役割が理解できた。(32%)
- キ エネルギー固定物質ATPの役割が理解できた。(24%)

くさや・なれずし等製造技術が比較的簡易で説明しやすい教材については，積極的に授業に取り組むことが可能だが，鮮度判定恒数KI値については，ATP関連化合物の化学変化を理解しなければならず，化学反応式が苦手な生徒たちにとっては，難解な教材であった。ただ，バイオフィレッシュにふれた生徒たちからは，連続フローシステム装置に対する素直な感動が伝わったと思われる。一方，生徒への評価については，次のように設定した。

関心・意欲・態度	思考・判断	技能・表現	知識・理解
<p>伝統食品と微生物の関わりについて，興味・関心を持つことができる。</p> <p>バイオセンサー等最新の技術にも微生物や生体成分が有効に利用されていることを理解できる。</p>	<p>くさや・なれずしの製造技術と各種微生物の作用の関係を考えることができる。</p> <p>魚類鮮度判定恒数KI値の意味とこの値を計測するバイオセンサーを化学的に理解できる。</p>	<p>伝統的発酵食品の特性と製造方法について，的確に表現できる。</p> <p>魚類鮮度とは何か，その判定基準となる要素とその特徴を表現できる。</p>	<p>くさや・なれずし等伝統的発酵食品の基礎・基本を理解できる。</p> <p>魚類鮮度判定恒数KI値とそれに関わるATP関連化合物と酵素の生体内での役割を理解できる。</p>

4 まとめ(本研究の総括)

- (ア) くさや，なれずし等伝統的発酵食品の製造技術については，パワーポイント，写真，図を用いての授業に対する生徒の反応は良好で，微生物の役割を理解させることができた。
- (イ) 鮮度判定恒数KI値の授業では，ATPなど記号や酵素化学反応等が基本となるため，理解不十分であった。ATPや酵素など中学レベルの教材を使用したり，化学式等繰り返し綴らせる作業学習を取り入れることで，生徒の理解を深めさせる授業の改善を図りたい。
- (ウ) バイオセンサーの実験では，魚肉液抽出のためのあじ3枚おろしに積極的に取り組み，3年生として，実習の成果が生かされており，体験学習の大切さを再認識した。
- (エ) バイオセンサーの実験は，教員の演示実験が主であったが，マイクロシリンジ等の器具を生徒に直接操作させる実験を取り入れ，学習効果があがるように改善したい。
- (オ) バイオフィレッシュの最新装置に生徒は素直に感動しており，普通科では体験できない貴重な実験・実習を実践している教科「水産」の素晴らしさを生徒に浸透させていきたい。

5 おわりに

微生物の有効活用は，食品や医療，環境等人類にとって，救世主になると確信している。これからの日本をになう生徒たちに微生物の驚くべきパワーを水産教育の中で伝えていきたい。

最後に指導課，安田健治前指導主事，小安由男指導主事，銚子商業高校，石毛治教科指導員の各先生方からのご指導・ご助言，またバイオセンサーの実験装置の教材研究について，ご指導を賜りました東京海洋大学，渡邊悦生名誉教授，濱田奈保子准教授，東洋大学，大熊廣一教授の各先生方に深く感謝申し上げます。