混合乳酸菌を利用した発酵漬物の開発

石川健一[*1]　内藤茂三[*1]　茶谷悦司[*2]　村瀬 誠[*1]

ScreeningofMixedLacticAcidBacteriasuitableforHyposalt-pickles.

Kenichi ISHIKAWA, Sigezou NAITOU, Etsushi CHAYA and Makoto MURASE

FoodResearchCenter,AITEC [*1]
ResearchandDevelopmentDivision,AITEC [*2]

低食塩の発酵漬物を製造するための乳酸菌スターターカルチャー法を確立することを目的とした。既選択株の*Leuconostoc* sp.D-133株、*Lactobacillus casei* L-14株と組み合わせ、３株の乳酸菌を利用することで、高風味な発酵漬物の開発を行った。酸の生成度、アミノ態窒素含量、変色防止効果、及び歯切れの好ましさなどで評価したところ、SC-10株、DI-2株、TK-2株、DI-1株、KZ-1株の５菌株が優れていた。

１．はじめに

元来、漬物は野菜の保存食品であり、多量の食塩を添加して製造されてきた。現在では低食塩で野菜の風味を生かした「浅漬」、「キムチ」の生産量が多くなり、たくあん漬、しょうゆ漬、奈良漬などの伝統漬物も低塩化、調味漬化の傾向となった。このように、従来は野菜の保存食であった漬物が、野菜を素材とした嗜好性の高い食品へと変化してきている。

低塩化に伴う問題点として、有害微生物の増殖によって白濁、異臭などの品質劣化が生じるようになった。また、漬物本来の風味が不足することもある。この対策としてpHの調整や低温下での製造、流通が行われている。ところで伝統的な発酵漬物である岐阜県の「赤かぶ漬」[1)]、愛知県の「乾燥たくあん漬」などは、原料に由来する有用な乳酸菌や酵母の作用によって、有害微生物の生育が阻止され、良好な風味を持つことが知られている。欧米のザウエルクラウトも乳酸菌を利用した漬物の一つであるが、現在ではチーズやヨーグルトとともに均一な製品を製造するため、選定された乳酸菌を「スターター」として添加する方法が普及している。

伝統的な発酵漬物である柴漬の製造は発酵漬から酢漬となったものが多く、さらに、たくあん漬も「砂糖絞り」などの調味漬に変化してきている。このような漬物の「脱発酵」化の理由として、わが国における発酵漬物の製造が原料由来の微生物に依存していることが考えられる。すなわち、日本人が自然発酵独特の臭いを受け入れなくなったこと、乳酸だけの直接的な酸味を嫌うことがあげられる。

そこで本研究では①シェルフライフが従来の浅漬よりも長い、②発酵したものをそのまま、あるいは調味することによって製品とする、③無塩～低塩で発酵させる、④不快臭がない、等を考慮し、食塩の存在しない条件下で漬物に有用な微生物を選択し、３種類の乳酸菌の混合接種の条件を検討した。

２．実験方法

２．１　実験材料

①漬物製造に汎用されていること、②原料が通年確保できること、③均一な試料とできること、の３点を考慮し、大根を対象野菜の中心とした。

実験に用いた大根は漬物製造業者が購入した新鮮な大根を用いた。品種は「耐病総太り」、平均長さ35cm、産地は岐阜県、平均重量は900g、中心部の平均太さは6.0cmであった。

乳酸菌スターターカルチャーとして、*Leuconostoc* sp.D-133株（以下D-133株と省略)、(財）日本乳業技術協会保存菌株の*Lactobacillus casei* L-14株（以下L-14株と省略）を使用した。これらは発酵漬物用として選択し

---

*1食品工業技術センター保蔵技術部　*2基盤技術部

た乳酸菌株である[2)]。そのほかの乳酸菌として、各種食品から分離した当センター保存菌株、(財) 発酵研究所保存菌株 (IFO)、東京農業大学保存菌株 (NRIC)、(財) 日本乳業技術協会保存菌株の合計21菌株を使用した(**表1**)。

2．2　乳酸菌の分離方法

乳酸菌実験マニュアル[3)]に記載されている方法に従って行った。分離試料は乳酸菌が多く存在すると思われる発酵食品 (熟れずし、鮒ずし、津田かぶ漬、高菜漬)、葉菜類 (小松菜、大根菜、かぶ菜)、果物 (ぶどう、いちじく) を使用した。分離培地は、アジ化ナトリウム、及びシクロヘキサノールがそれぞれ10mg/lの割合で添加されたGYP白亜寒天培地を使用した。

2．3　モデル漬物の調製方法

漬物に適した乳酸菌スターターを選択するため、実験は大根を用いた漬物の系で行うこととした。

20リットルの水槽に大根を５kg入れ、10分間通水洗浄した。この大根を殺菌剤 (オーヤラックスの「ピューラックス」)を用い、次亜塩素酸ナトリウム濃度100ppmとし、さらに酢酸を20ml添加し殺菌した。殺菌は30分間行った。以上の処理を行った大根を水洗し、大根の中央部の皮を厚さ５㎜に無菌的な条件下で除去し、中心部を１㎝角の大きさに切断した (以下、この条件で調製したものを「カット大根」と称す)。カット大根50ｇと、滅菌した蒸留水50ｇを200ml容の滅菌容器に入れた (以降、これをモデル漬物と称す)。モデル漬物にD-133株を10^6/g、L-14株を10^7/gレベルになるように混合接種した。これに各乳酸菌を10^7/g加えて接種し、18℃で７日間発酵させ、続いて10℃で23日間熟成させた。そして７日後と１か月後の酸度、アミノ態窒素量の測定、外観観察を行い、風味向上効果をみた。実験は４回に分けて行い、それぞれ対照としてD-133株、L-14株のみ接種したものを用いた。

なお、乳酸菌懸濁液の調製はMRS液体培地中 (５ml) で-60℃保存した乳酸菌株を流水で急速溶解後、30℃で24時間培養した。培養後、3000rpmで10分間、遠心分離し、上澄みを除き、滅菌水で洗浄した。再度遠心分離し、上澄みを除去したものに滅菌水を５ml加え、よく懸濁させた。

2．4　化学分析の条件

モデル漬物の漬汁 (７日後、および１か月後) について酸度、アミノ態窒素の測定を行った。酸度は漬汁５mlをpHが8.3になるまで中和し、そのとき消費した0.1N水酸化ナトリウム溶液量から算出した。アミノ態窒素量は酸度を測定した溶液にホルモール試薬を５ml加え、pHが8.3になるまで中和し、そのとき消費した0.1N水酸化ナトリウム溶液量から算出した。

2．5　微生物菌数の測定方法

生菌数は標準寒天培地を用い、混釈平板培養法により、35℃２日間培養後、計測した。乳酸菌数はBCP加プレートカウント寒天培地を用い、混釈法で35℃３日間培養後、コロニーの周囲が黄化したものを計測し、乳酸菌が規定量接種されていることを確認した。

2．6　外観観察

大根漬の外観、色、味、テクスチャーを対照と比較した。

表１　実験に使用した乳酸菌株の一覧

使用した乳酸菌菌株	分離源
Leuconostoc sp. D-133	小松菜から分離
Lactobacillus casei L-14	(財) 日本乳業技術協会
Unknown DI-2 *1	大根葉から分離
Lactobacillus sp. DI-3 *1	〃
Lactobacillus sp. NR-1 *1	熟れずしから分離
Lactobacillus sp. TK-1 *1	高菜漬から分離
Lactobacillus sp. TK-2 *1	〃
Lactobacillus casei L-12	(財) 日本乳業技術協会
Lactobacillus plantarum N-3-2	野沢菜漬から分離
Lactobacillus sp. FZ-2	鮒ずしから分離。
Pediococcus sp.78	肉製品用スターター
Lactobacillus sp. TK-3 *1	高菜漬から分離
Lactobacillus sp. DI-1 *1	大根葉から分離
Lactococcus diacetylactis SC-10	(財) 日本乳業技術協会
Lactococcus diacetylactis N-7	〃
Lactobacillus sp. KZ-1	金山寺味噌から分離
Lactobacillus sp. FN-1 *1	鮒ずしから分離
Lactobacillus plantarum N-2-1	野沢菜漬から分離
Lactobacillus casei subsp. *paracasei* IFO 12004	(財) 発酵研究所
Pediococcus sp. AG-1	餅麹より分離
Lactobacillus sake D-1001	酒もとより分離

*1今年度分離した乳酸菌株

3．結果及び考察

3．1　乳酸菌の分離

乳酸菌の分離源、分離できた乳酸菌について表１に併せて示した。各種試料から８株の乳酸菌を分離することができた。発酵食品からは予想通り、多くの乳酸菌を分離することができた。そのほとんどは乳酸桿菌であった。自然発酵漬物では、発酵が進行するにつれて乳酸桿菌が多くみられ、これらは生育は比較的遅いが、うま味生成などの効用をもつと考えられる。今回発酵漬物 (製品) から分離できた乳酸桿菌のスターターとしての適性をみる必要がある。一方、レッドグローブ、いちじくなどの

果物からは乳酸菌が分離できなかった。この理由として、試料の酸度が高いこと、乳酸菌以外の微生物が多いために、分離が妨げられたことが挙げられる。

3．2　漬物に適した乳酸菌の選択

表2にモデル漬物における酸度、アミノ態窒素量、外観の変化を示した。乳酸菌を接種しないものは*Flavobacterium*属や*Bacillus*属と思われる腐敗菌が生育し、不快な臭いを形成した（データー省略)。

既に選定したD-133株、L-14株にさらにDI-2株、またはTK-2株を接種することで、アミノ態窒素量が多く推移した。また大根のきれいな色を保った。対照の酸度、アミノ態窒素量が著しく低かったが、SC-10株接種によって、アミノ態窒素量が多く推移した。AG-1株接種では７日後の酸度は対照より低いが、アミノ態窒素量は多かった。そして１か月経過すると、酸度、アミノ態窒素ともに対照よりも多くなった。

よりよい発酵漬物とするためには発酵初期に一定量の酸があることが必要と考えられる。これによって腐敗菌の活動を阻止することが可能である。しかし過剰な酸味は味覚上、敬遠される。そこで混合接種することで以下の評価を行った。

(1) ７日後の酸味は対照よりも低いこと、

(2) １か月後の酸味は対照よりも高いこと.

また、アミノ態窒素量が多いほど、遊離アミノ酸含量が増えている指標といえる。

(3) ７日後、１か月後ともに対照よりも20%以上アミノ態窒素量が高いこと.

さらに発酵漬物の性状、官能については

(4) きれいな白色を維持していること

(5) 深い味であること

(6) まろやかなこと

(7) 好ましい香りを有すること

(8) シャキシャキ感があること

が重要である。以上、いずれかの項目に該当した場合に１点ずつ付与し、その合計をまとめたところ、SC-10株は６点、DI-2株、TK-2株、DI-1株、KZ-1株は５点であった。これらの乳酸菌を利用し、赤かぶを用いた発酵漬物の試作試験を行う予定である。

4．結　　び

発酵漬物の製造において、乳酸菌を添加した漬物を検討した。

(1) 各種食品から乳酸菌の分離を検討したところ、９菌株の乳酸菌が分離できた。

(2) ３種混合乳酸菌を利用した漬物の評価基準として、酸の生成度合、アミノ態窒素含量、変色を防ぐ効果を持つこと、歯切れが好ましいことが挙げられる。

(3) 発酵漬物用の乳酸菌スターターとして既選択した*Leuconostoc* sp.D-133株、*Lactobacillus casei* L-14株に、今回分離した乳酸菌を加えて接種し、その発酵適性を確認したところ、SC-10株、DI-2株、TK-2株、DI-1株、KZ-1株の５菌株が優れていた。

文　　献

1)　円谷悦造・渡辺篤・正井博之:日食工誌, 29, 202(1982).

2)　石川健一・加藤丈雄・小宮孝志：食科工, 46, 311(1999).

3)　小崎道雄ら:乳酸菌実験マニュアル(朝倉書店, 東京)p.6(1992).