

## 研究論文

## 赤カブの色彩を保つ乳酸菌を利用した発酵漬物製造法について

石川 健一\*<sup>1</sup>

## Development of a Processing Method for the Pickles of Red Turnips using Lactic Acid Bacteria to Improve the color

Kenichi ISHIKAWA\*<sup>1</sup>Food Research Center\*<sup>1</sup>

温暖な愛知県でも栽培が容易で、漬物への加工適性にすぐれた赤カブ「つがる紅」を用いた発酵漬物について検討した。乳業用乳酸菌 *Lactobacillus casei* L-14 株、及び *Enterococcus faecalis* AK-1 株（愛知県特許）を赤カブ漬に接種し、乳酸菌数、有機酸、アントシアニン組成、抗酸化性を経時的に測定した。その結果、AK-1 株、または L-14 株を単菌で接種するよりも混合接種したほうが、①乳酸が十分生成すること、②アントシアニンの保持に有効なこと、③DPPH ラジカル捕捉能（抗酸化性）が高まること、などの知見を得た。この発酵赤カブ漬を食品素材化する目的で乾燥を検討したところ、減圧乾燥、または真空凍結乾燥法させることで、彩りや酸味料に使用できる優れた料理素材となった。

## 1. はじめに

わが国には地域固有の農産物が数多く存在し、それらの機能性や乳酸菌を活用した地域ブランド品づくりが各地で盛んである<sup>1)2)</sup>。近年、アントシアニンの抗酸化性や視覚改善作用などの機能性が注目され、健康食品ブームによって多彩な商品が登場している。アントシアニンはシソ、サツマイモ、赤キャベツ、赤カブなどの野菜の主要色素であり、梅干しや赤カブ漬など漬物においてもその色彩が好まれ、古くから活用されてきた。そこで多くの品種が存在する赤カブの中から、温暖な愛知県で栽培しても容易に生育し、アントシアニンや遊離アミノ酸が豊富で、発酵漬物への加工適性にすぐれた「つがる紅」を選択した<sup>3)</sup>。「つがる紅」に当センター保有の2種類の乳酸菌を混合接種して発酵させ、乳酸菌数の推移、有機酸組成、アントシアニン量、抗酸化性、食品素材化等について詳細な検討を行った。

## 2. 実験方法

## 2.1 使用した赤カブ、及び発酵方法

愛知県農業総合試験場（愛知県長久手市）の園芸試験ほ場で栽培された赤カブ「つがる紅」を用いた。この赤カブをよく洗浄し、次亜塩素酸ナトリウム溶液を有効塩素 100mg/L となるように加え、さらに酢酸を 1000mg/L となるように加えて、30 分間放置して殺菌を行った。これをよく水洗し、次亜塩素酸ナトリウムや酢酸を完全に除去したのち、赤カブを約 5mm に切断した。切断した

赤カブ 6kg を、10%食塩水 2kg と共に、30L 容の漬物桶に入れて、中蓋と 12 kg の重石を載せた。これを 2 個作成して 10℃、24 時間下漬した後に漬汁を除去し、下漬した赤カブを 1.5kg ずつ 20L 容の漬物桶に入れた（5 個作成）。ここへ 4%食塩水を 450g、乳酸菌懸濁液を加えた。そして、重石を 4kg ずつ載せて 15℃で 7 日、次に 10℃で 12 日、さらに 0℃で 56 日の合計 75 日間発酵させた（以下、発酵赤カブ漬とする）。

乳酸菌は *Enterococcus faecalis* AK-1 株、及び *Lactobacillus casei* L-14 株を用いた。各乳酸菌株は MRS 液体培地で 30℃、24 時間前培養した。これを 3000rpm、15 分間で遠心分離し、上澄みを除去して菌体を滅菌生理食塩水で洗浄した。洗浄後、液体培地と等容量の滅菌生理食塩水を加えて乳酸菌懸濁液とした。これらの懸濁液は 1mL あたりの乳酸菌数が  $10^9$  と予想されるため、そのまま、あるいは 1/100 に希釈して接種した。

AK-1 株、及び L-14 株の接種方法は、AK-1 株を全体で 1g あたり  $10^7$  となるように接種…①、L-14 株を 1g あたり  $10^7$  となるように接種…②、AK-1 株を 1g あたり  $10^5$ 、L-14 株を  $10^7$  となるように接種…③、AK-1 株を 1g あたり  $10^7$ 、L-14 株を  $10^7$  となるように接種…④、AK-1 株を 1g あたり  $10^7$ 、L-14 株を  $10^5$  となるように接種…⑤ の 5 種とした。

## 2.2 乳酸菌数の測定

MRS 寒天培地に炭酸カルシウムを加えたもの（MRS 白亜寒天培地）を用い、塗抹法で 35℃で 48～72 時間培

\*<sup>1</sup> 食品工業技術センター 保蔵包装技術室

養し、コロニーの大きさと色調から *Enterococcus faecalis* AK-1 株、*Lactobacillus casei* L-14 株の菌数をそれぞれ算出した。

### 2.3 有機酸の定量分析

食品分析法<sup>4)</sup>に準じる方法で行った。

### 2.4 アントシアニンの定量

発酵赤カブ漬については、新・食品分析法<sup>5)</sup>に準じて、5%ギ酸溶液による抽出を行い、漬汁についてはそのまま HPLC に供した。HPLC の条件は島津製作所製 LC-10AD システムを用い、カラムは SHISEIDO CAPCELLPAK C18 4.6×250mm、カラム温度 50℃とした。移動相は 0.1%トリフルオロ酢酸溶液 (A液) に対し、25%アセトニトリル、1.5%トリフルオロ酢酸、20%酢酸の混合液 (B液) を混合して使用し、B液の濃度を 0%から 40 分後に 100%となるようにリニアグラジェントとした。流速は毎分 0.8mL、検出は 520nm である。

アントシアニンの標準物質として Extrasynthese 社の Cyanidine-3,5-di-O-glucoside chloride 5mg/L 5%ギ酸溶液を用いた。

### 2.5 DPPH ラジカル捕捉能 (抗酸化性) の測定

発酵赤カブ漬を細断し、5g 採取して 75%エタノールを 20mL 加え、80℃で 20 分間 3 回還流抽出した。抽出した液を集め、75%エタノールで 100mL にメスアップして測定用試料溶液とした。試料溶液 0.1mL、MES バッファー (pH6.0) を 0.15mL、50%エタノール溶液 0.5mL を混合し、ここへ 2mM DPPH (1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル) 溶液を 0.3mL 加えて放置した。その後、波長 520nm における吸光度を測定し、Trolox 標準溶液 (0~4.0mg/100mL) の結果と比較し、試料 100g あたりのラジカル捕捉能を Trolox 相当量として求めた。

### 2.6 発酵赤カブ漬の乾燥

2.1 で得られた発酵赤カブ漬 (乳酸菌接種条件は④) について、シャーレーに 50~60g の試料を入れて、それぞれ 4 連で乾燥実験を行った。熱風乾燥は (株) 加藤製作所製 KATEX-60 型を使用し、70℃で 20 時間処理を行った。減圧乾燥は (株) アドバンテック東洋製 VO-230 型を用い、50℃で 20 時間処理を行った。真空凍結乾燥は (株) ラブコンコ社製 FD-10 型を使用し、棚温度 30℃で 24 時間処理した。乾燥した赤カブ漬の表面色は日本電色工業製の色差計 ND-280 型を用いて測定した。試料台口径は 6mm とし、試料を 10 回測定後、その平均値とした。

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 乳酸菌数の推移

試験区①では、赤カブ漬に AK-1 株を  $1.3 \times 10^7$ /g 接種

したところ、15℃ 7日発酵後に  $7.8 \times 10^7$ /g まで増殖し、その後は徐々に減少した。試験区②では、赤カブ漬に L-14 株を  $4.2 \times 10^7$ /g 接種したところ、15℃ 7日発酵後には  $3.7 \times 10^8$ /g まで増殖し、その後も  $10^8$ /g レベルを維持した。赤カブ漬に AK-1 株と L-14 株を混合接種した試験区③~⑤は、いずれも L-14 株は  $10^8$ /g まで増殖し、75 日経過しても  $10^7$ /g を維持していた。しかし AK-1 株は減少傾向を示し、75 日経過後はほとんどみられなくなった。

以上の AK-1 株と L-14 株の菌数推移の結果から、今回の発酵条件では両者は共生ではなく、L-14 株が AK-1 株に対して優勢であったと考えられる。

発酵赤カブ漬の乳酸菌数の推移を 図 1-a~e に示した。

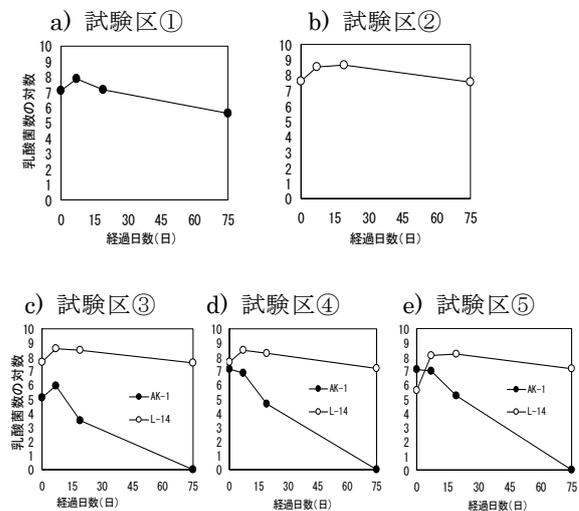


図 1 発酵赤カブ漬の乳酸菌数の推移

### 3.2 有機酸含量

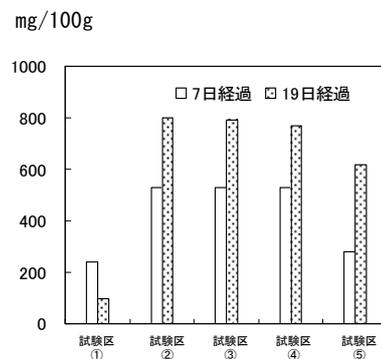


図 2 発酵赤カブ漬の乳酸含量の推移

縦軸の数値は、試料 100g あたりの乳酸量 (mg)

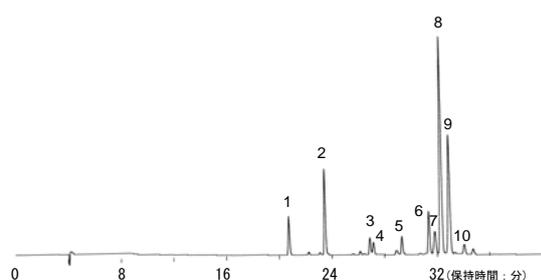
発酵赤カブ漬中の乳酸含量を 図 2 に示した。自然発酵

で調製した赤カブ漬では、発酵温度によってはヘテロ発酵を示す乳酸菌によって刺激臭のある酢酸が過剰生成し、風味に悪い影響を及ぼすことがある。今回の実験ではいずれの試験区も酢酸はほとんど検出されず、刺激臭は感じなかった。

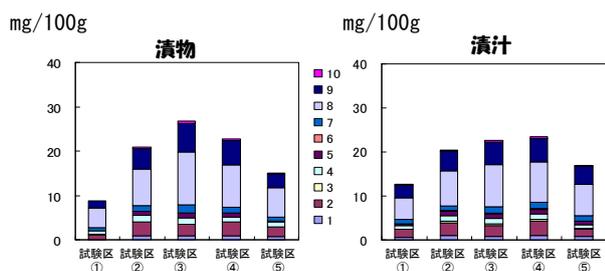
赤カブ漬に AK-1 株だけを接種した試験区①では乳酸量が少なく、発酵 19 日を経過しても 100g あたり 300mg 以下であった。これに対し、試験区②～④は 15℃、7 日の発酵によって十分な乳酸が生成し、その後も同様に推移した。

### 3.3 アントシアニン組成

発酵赤カブ漬の 5%ギ酸抽出溶液、および漬汁について、アントシアニン分析を行った結果、10 ピークが観察され、これらをすべて Cyanidine-3,5-di-O-glucoside にみなしたときのアントシアニン量を算出した。アントシアニン組成のクロマトグラムを **図 3** に示した。



**図 3** 発酵 7 日後の赤カブ漬のアントシアニン組成 (試験区④)



**図 4** 発酵 7 日後の赤カブ漬、及び漬汁のアントシアニンの合計 (総アントシアニン量)

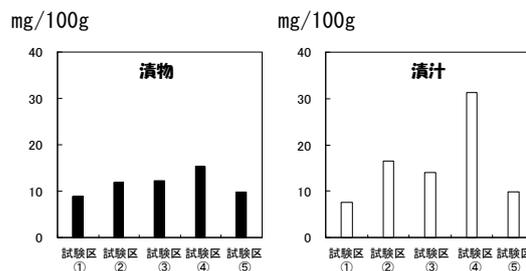
縦軸の数値は、HPLC でみられた 1～10 のピークを、すべて Cyanidine-3,5-di-O-glucoside とみなしたとき、試料 100g あたりのアントシアニン量(mg)

7 日間発酵させた赤カブ漬 (漬物) のアントシアニンについて、各アントシアニンを合計したもの (試料 100g あたり) は試験区①が 8.8mg、試験区②が 20.9mg、試

験区③が 26.8mg、試験区④が 22.8mg、試験区⑤は 15.0mg であった (**図 4**)。一方、漬汁のアントシアニンの合計量 (試料 100g あたり) は試験区①が 12.6mg、試験区②が 20.5mg、試験区③が 22.6mg、試験区④が 23.4mg、試験区⑤は 17.0mg であった。赤カブの根のうち、アントシアニンが主に存在しているのは表皮 (周皮) である。発酵によって生成した乳酸により、アントシアニンが安定に酸抽出されることで、漬汁に溶解する。これが白色部位である赤カブ内部に移行し、漬物のほぼ全体が桃色～赤色に均一に染まる。しかし、試験区①のように乳酸生成が不十分であると、腐敗微生物によってアントシアニンが分解したり、赤カブ内部への移行が延滞し、赤カブ漬全体の赤さは低くなると考えられる。

以上から、発酵赤カブ漬のアントシアニン量は乳酸量と関連すると考えられた。しかし試験区②～④の乳酸量には差は無いにもかかわらず、アントシアニン量は③、または④のほうが高く、見た目の赤さもきわだっていた。この原因の究明、及び各アントシアニンの化学的構造の解析については今後の課題であるが、結果として L-14 株と AK-1 株を混合利用したことにより、アントシアニンの保持に有効なことが推察された。工藤ら<sup>6)</sup>は、ペースト状に加工した紫サツマイモに各種乳酸菌を接種し、得られたサツマイモヨーグルトの色差を検討したところ、接種菌株によって大きな差が生じたことを報告している。この理由として、アントシアニンを分解する乳酸菌株と分解しない乳酸菌株が存在することを推察している。アントシアニンがどう分解されるかメカニズムは不明であるが、スターター菌株の選択が製品の品質 (視覚性) を大きく左右することは明らかである。

### 3.4 DPPH ラジカル捕捉能 (抗酸化性)



**図 5** 発酵 7 日後の赤カブ漬、及び漬汁の DPPH ラジカル捕捉能 (抗酸化性) の測定結果  
縦軸の数値は、試料 100g あたりのラジカル捕捉能 (Trolox 相当 mg)

発酵 7 日後の発酵赤カブ漬、及び漬汁の DPPH ラジカル捕捉能 (抗酸化性) の測定結果を **図 5** に示した。赤カ

ブ漬では、試験区①、及び⑤は 100g あたりの Trolox 相当量として 10mg 以下であったのに対し、試験区④では 15mg/100g とわずかに高かった。総アントシアニン量の多さと DPPH ラジカル捕捉能の強さが一致しないのは、発酵赤カブ漬を 75%エタノールで抽出すると、アントシアニン以外にポリフェノール類、アミノ酸などの抗酸化性物質も溶出するためと考えられる。

一方、漬汁は試験区④が Trolox 相当量として 30mg 以上を示し、他区よりも有意に高かった。漬汁には強い抗酸化性を有するアントシアニンが多く含まれており、AK-1 株と L-14 株の適切な比率での混合接種によって抗酸化性を増加させることが可能であることが明らかとなった。

### 3.5 赤カブ漬の乾燥

発酵赤カブ漬の各種乾燥方法による表面色、重量残存率について表 1 に示した。発酵赤カブ漬を通風乾燥した結果、70℃で 20 時間乾燥しても重量が当初の約 25%までしか減少せず、ウェット感が残り、加熱による著しい変色が起こった。一方、真空乾燥、または真空凍結乾燥したものは、24 時間以内に重量が約 11%まで減少し、明るさを示す L\*、赤さを示す a\* がともに高く、きわめて鮮やかであった。発酵赤カブ漬は食塩 2%、乳酸 0.8%のほか、ポリフェノール類などを含むため、常圧での乾燥は高温で長時間の処理が必要である。そのため色素の退色や破壊がおこると考えられた。減圧して低温で乾燥することで色調、風味ともに好ましく仕上げるのが可能であった。

表 1 乾燥発酵赤カブ漬の色調（表面色）、重量残存率

乾燥方法	L*	a*	b*	重量残存率 (%)
通風 70℃20 時間	32.65	29.44	20.10	26.3
真空 50℃20 時間	50.96	36.05	21.53	12.6
凍結真空 30℃24 時間	60.04	43.32	18.75	11.5

## 4. 結び

わが国における発酵赤カブ漬の製造は原材料などに付着していた微生物と寒冷気候に頼っており、出現する乳酸菌によっては、温暖な環境で均質な製品を製造するためには乳酸菌スターターの選択が重要である。

そこで、温暖な愛知県で栽培が容易で、漬物への加工適性にすぐれた赤カブ「つがる紅」と、*Enterococcus faecalis* AK-1 株、及び *Lactobacillus casei* L-14 株を用い、発酵漬物を検討した。その結果、以下のような知見

を得た。

- (1) 発酵の経過に伴う乳酸菌数の推移を検討した結果、AK-1 株単独接種ではゆるやかに菌数が減少したが、L-14 株と混合接種すると、AK-1 株の菌数は大きく減少することが明らかとなった。一方 L-14 株は接種方法で菌数はあまり差がなかった。
- (2) 赤カブ漬に AK-1 株を単独で接種したものでは、7 日間発酵させても乳酸の生成が 300mg 以下/100g とやや少なかったが、L-14 株と混合接種することで改善された。
- (3) 発酵赤カブ漬のギ酸抽出溶液から 10 種類のアントシアニンのピークが観察された。それらの合計は乳酸の量に関連すると考えられたが、L-14 株と AK-1 株を混合した試験区が高い傾向があり、アントシアニンの保持に有効なことが推察された。乳酸発酵によるアントシアニンの構造変化や、乳酸菌との相互作用については今後の課題となった。
- (4) 7 日間発酵させた赤カブ漬の DPPH ラジカル捕捉能 (Trolox 相当量) は AK-1 株接種では 10mg 以下/100 であったのに対し、混合接種すると 15mg/100g とわずかに高まった。漬汁では AK-1 株を 10<sup>7</sup>/g と L-14 株を 10<sup>7</sup>/g の混合接種したもので、30mg 以上/100g となり、他区よりも有意に高かった。
- (5) 発酵赤カブ漬の乾燥については、食塩や乳酸が多く含まれているため、通風では困難であった。変色防止や風味保持のためには減圧による乾燥が必要であった。

## 謝辞

原材料の赤カブの入手についてご配慮いただいた愛知県農業総合試験場園芸研究部、丹羽昌二主任はじめ、関係各位に深く感謝申し上げます。

## 文献

- 1) 高山清子ら：宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告，55，101(2010)
- 2) 樋口智子ら：福岡県工業技術センター研究報告，21，35(2011)
- 3) 石川健一，森 昭博，西田淑男：愛知県産業技術研究所研究報告，9，76(2010)
- 4) 渡辺篤二ら編：食品分析法，P533(1982)，光琳
- 5) 中村良ら編：新・食品分析法，P653(1996)，光琳
- 6) 工藤康文，松田茂樹：日本食品科学工学会誌，47(8)，619(2000)