技術報告

室温及び接種菌数が納豆発酵中の外貌, 納豆菌数, 硬度, 色調の変化に及ぼす影響

松本伊左尾*・秋本隆司*・今井誠一*

Effect of Temperature and Inoculum Size on *Natto's* Appearance, Number of *B. natto*, Temperature, Hardness and Color Tone during Fermentation

Isao MATSUMOTO*, Takashi AKIMOTO* and Seiichi IMAI*

* Food Research Institute of Niigata Prefecture,
2-25, Shinei-cho, Kamo-shi, Niigata 959-13

Natto's appearance, temperature, number/g of *B. natto*, hardness and color tone during fermentation were investigated at different temperatures (30, 35, 40, 45°C) with different inoculum sizes (10^2 , 10^4 , 10^6 , cells/g). At a low temperature down with an decrease in inoculum size the fermentation rate was slowed. When the incubation temperature was high, *Natto's* temperature was also high. At higher temperatures and larger inoculum sizes, the growth rate of *B. natto* was faster. The hardness continued increasing through the 30 hours of fermentation, and showed higher values at higher temperatures and larger inoculum sizes. The change in Y% was opposite to those in x, y values. The z value increased during "gray green stage". *Natto's* fermentation was kept in good conditions at 35°C with an inoculation of $10^4 \sim 10^6$ cells/g or at 40°C $\cdot 10^2 \sim 10^4$ cells/g of the starter, judging from the appearance, color tone and hardness at 18~20 fermentation hours. (Received Feb. 17, 1992)

納豆は伝統的な無塩大豆発酵食品であり, これまでに多くの研究がなされてきた。しかしながら, 製造現場における納豆の発酵が18~20時間と短いためか, 発酵中の変化については, 通常の納豆製造条件下での糖質¹⁾, 有機酸²⁾, トコフェロール³⁾及び窒素成分⁴⁾の報告があるのみである。

そこで著者らは, 納豆の最適製造条件を得るために, 発酵室の温度(以下, 室温と略記)と納豆菌の接種菌数(以下, 接種菌数と略記)を異にした納豆の発酵を行い, 経時的に種々の変化の検討を行っている。本報告では, 納豆の品質と直接関係のある外貌, 納豆菌数, 硬度及び色調の変化について報告する。なお, 納豆の品質の重要

な因子である糸引き性については, 酵素活性との関連で稿を改めて報告する予定である。

実 験 方 法

1. 供試大豆

納豆メーカーが最も多く使用しているといわれている中国産の小粒大豆(品種は不明)を供試した。

2. 納豆菌

宮城野納豆製造所(株)の市販納豆菌を使用した。

3. 納豆製造法

(1) 大豆処理

大豆を水洗後, 3倍量の水で一晩浸漬し, 水切り後に

* 新潟県食品研究所 (〒959-13 新潟県加茂市新栄町 2-25)

小型大豆蒸煮缶にて 1.5 kg/cm^2 で40分間蒸熟した。

(2) 種 付

蒸熟後の品温が 80°C 前後の大豆 1 g に対して、納豆菌を計算上 10^2 , 10^4 , 10^6 となるように接種した。

(3) 発 酵

納豆菌を接種した蒸熟大豆約 80 g を納豆用ポリスチレンパック (以下、PSP と略記) に盛り込み、有孔被膜で覆った後、室温 30 , 35 , 40 , 45°C 、相対湿度 90% に設定した恒温恒湿器に入れ発酵させた。

4. 外貌観察

外貌は肉眼と写真撮影により観察した。

5. 品 温

自記温度計のセンサーを PSP 内にセットし、品温を測定した。

6. 納豆菌数

納豆菌のビオチン要求性⁵⁾を利用し、藤井ら⁶⁾の納豆用合成培地をビオチン有無に改変し、希釈平板法⁷⁾にて納豆菌数を計測した。なお、熱処理等による生菌数と孢子数の分別は行わなかった。

7. 硬 度

いわゆるキッチンバランスの上で、試料を指で压べし、つぶれたときの加重を読み取った。試料 50 粒の硬度を測定し、 1 粒あたりの平均グラム数で表示した。

8. 色 調

納豆試験法⁸⁾によった。すなわち、発酵中の納豆をそのまま透明なガラス板に挟み、カラーコンピュータ (スガ試験機(株)製 SM 2 型) により CIE 表示法の Y (%), x , y で表示した。

実験結果及び考察

1. 発酵中の外貌変化

発酵中の納豆は、PSP 内で次に示す6つステージが観察された。なお、Fig. 1 は室温 40°C ・接種菌数 10^4 /g で発酵させたものの例であるが、それぞれの出現時期等は後述するように、室温及び接種菌数により異なった。

① 納豆菌を接種した蒸熟大豆の表面は徐々に光沢がなくなってくるが、4時間を経過すると Fig. 1 (A) のように蒸熟大豆の表面が光沢をおび、濡れたようになった (「照り」と仮称)。② 6時間後には、Fig. 1 (B) のような粘質物が僅かに確認された (「糸引き開始期」と仮称)。③ さらに発酵が進み10時間後には、Fig. 1 (C) のように白色の菌膜状の物質で蒸熟大豆の表面が覆われた (「菌膜」と仮称)。④ ついで16時間後には、「菌膜」にしわがより、Fig. 1 (D) のように部分的に膜が溶けたようになった (「菌膜消化」と仮称)。⑤ 22時間を経過すると、Fig. 1 (E) のように「菌膜」全体が溶けた

Fig. 1 Photographs of Natto's appearances during fermentation at 40°C (inoculum size: 10^4 cells/g)

(A) The gloss (at 4 hours), (B) The start of stringiness (at 6 hours), (C) The bacilli film (at 10 hours), (D) The digestion of bacilli film (at 16 hours), (E) The melting of bacilli film (at 22 hours), (F) The gray green stage (at 8~16 hours).

ようになり、蒸熱大豆の表面が露呈した（「菌膜溶解」と仮称）。⑥ なお、Fig. 1 (F) のように発酵途中で蒸熱大豆の黄色が弱まり、灰緑色を呈す期間が8～16時間に観察された（「灰緑色期」と仮称）。

これら外貌変化の時期と室温及び接種菌数の関係は、Table 1 のように整理された。

「照り」：室温 30, 35℃ で発酵させたものは、接種菌数の少ないものほど遅く観察された。これに対し室温 40, 45℃ のそれは、接種菌数による影響が少なく 4～6 時間で「照り」が観察された。

「糸引き開始期」：「照り」と同様に室温 30, 35℃ で発酵させたものは、接種菌数の少ないものほど遅く観察された。これに対し室温 40, 45℃ のそれは、接種菌数による影響が少なく、6～8 時間で「糸引き開始期」が観察された。

「菌膜」：接種菌数 10^6 /g のものは室温の影響が少なく、8～10 時間で観察された。これに対し接種菌数 10^4 /g 以下のものは、低い室温で発酵させたものほど遅くな

った。また、「菌膜」の厚さや量は測定していないが、肉眼観察では接種菌数にかかわらず、室温 45℃ で発酵させたものは蒸熱大豆上の「菌膜」の広がり弱く、室温 40℃ 以下では低い室温で発酵させたものほど「菌膜」が厚い傾向であった。

「菌膜消化」：これの出現は、同室温であれば接種菌数の少ないもの、同一接種菌数ならば低い室温で発酵させたものほど、遅くなった。なお、室温 30℃、接種菌数 10^2 /g で発酵させたものはこのステージが確認されなかった。

「菌膜溶解」：室温 35℃ 以下で発酵させたものは、いずれもこれが認められなかった。室温 40, 45℃ のそれでは、接種菌数の多いものほどこのステージが速く観察され、室温 45℃ のそれでは「菌膜消化」とこのステージがほぼ同時であった。

「灰緑色期」：これの出現は、室温 30℃ で発酵させた場合は接種菌数の少ないものほど遅かった。これに対し室温 35, 40℃ の場合は接種菌数の影響が少なく 8～

Table 1 Changes in Natto's appearance during fermentation

T* (°C)	I. · S** (Cells/g)	Fermentation time (h)																
		2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30		
30	10 ²					○	<div><div></div></div>											
	10 ⁴				○	◎	<div><div></div></div>										□	
	10 ⁶			○	◎	△	<div><div></div></div>											□
35	10 ²				○	◎	<div><div></div></div>											□
	10 ⁴			○	◎	<div><div></div></div>											□	
	10 ⁶		○	◎	<div><div></div></div>											□		
40	10 ²			○	◎	<div><div></div></div>										□		■
	10 ⁴		○	◎	<div><div></div></div>											■		
	10 ⁶		○	◎	<div><div></div></div>											■		
45	10 ²			○	◎ (△)						□	■						
	10 ⁴		○	◎ (△)				□	■									
	10 ⁶		○	◎ (△)			□	■										

○ : The gloss, ◎ : The start of stringiness, △ : The bacilli film,
 □ : The digestion of bacilli film, ■ : The melting of bacilli film, [] : Gray green stage
 () : Weak

* : Incubation temperature ** : Inoculum size

10 時間であった。また、このステージが継続している時間は、接種菌数による影響が少なく、室温 30℃ で発酵させたものは 18~22 時間、室温 35℃ のそれは 10~12 時間、室温 40℃ のそれは 6~8 時間それぞれ観察された。なお、室温 45℃ のそれは、このステージが認められなかった。

一方、通常の納豆の発酵時間は 18~20 時間（以下、室出し時間と略記）であり、この時点での納豆の外貌は次のようであった。

室温 30℃：いずれも「灰緑色期」のステージであり、接種菌数 $10^6/\text{g}$ のものでも粘質物が少なく、官能的にも発酵不足であった。室温 35℃：いずれの接種菌数のものでも「菌膜消化」が見られず、「菌膜」のステージであったが、室温 30℃ で発酵させたものより「菌膜」は薄く、発酵は進んでいた。また、接種菌数 $10^2/\text{g}$ のものは「灰緑色期」であったが、接種菌数 $10^4\sim 10^6/\text{g}$ のものではそれが消失しはじめていた。室温 40℃：接種菌数 $10^2, 10^4/\text{g}$ のものは「菌膜消化」が始まっており、接種菌数 $10^6/\text{g}$ のそれでは「菌膜溶解」が観察された。室温 45℃：いずれの接種菌数のものも「菌膜溶解」しており、発酵過多であった。

以上の外貌観察より、納豆の発酵は室温が低くなるに従い、接種菌数の少ないものほど遅れることが明らかになった。逆に接種菌数が少ないものでも室温が高くなるに従い、初期発酵の遅延は短縮され、納豆の発酵は進んだ。しかし、高い室温で発酵させたものは早く過発酵になった。また、外貌上からの最適発酵条件は、室温 35℃・接種菌数 $10^4\sim 10^6/\text{g}$ 、室温 40℃・接種菌数 $10^2\sim 10^4/\text{g}$ と判断された。

2. 発酵中の品温変化

発酵中の品温の変化を Fig. 2 に示した。本実験は、納豆製造現場と同様に PSP 中で行った。ただし、室温及び湿度は常に一定に保ったが、発酵熱の除去等の品温管理は行わなかった。

品温は、PSP の中で設定室温あるいはその近辺まで一旦低下し、「照り」の観察された頃より上昇し、「菌膜」が出現して最高値に達した。その後、「菌膜消化」を経て、品温は徐々に低下した。「菌膜溶解」は最高品温を過ぎてなおかつ品温が 45℃ 以上にあるときに出現した。品温の最高値と設定室温との差は室温により異なるが、室温 30~40℃ で発酵させたものは 10~12℃、室温 45℃ は 7~9℃ であった。

品温の消長を ⑦ 発酵開始より品温の上昇開始までの時間、④ 品温の上昇開始より品温の最高値までの時間、⑤ 発酵開始より品温の最高値までの時間、に分けると次のようであった。⑦ は室温・接種菌数の影響を受け、室温が高いものほど、接種菌数が多いものほど短くなった。また、④、⑤ は同一接種菌数であれば室温の高いものほど短くなる傾向を示したが、接種菌数より室温による影響が大きく、高い室温で発酵させたものほど短かった。

通常の室出し時間の品温は、室温 30℃・接種菌数 $10^2/\text{g}$ で発酵させたもののみが最高品温に到着していないが、それ以外はすでに最高品温に達し、ほとんどは低下に向かっていった。

3. 発酵中の納豆菌数の変化

発酵中の納豆菌数の変化を Fig. 3 に示した。納豆菌数は、種々の微生物にみられるように誘導期、対数期を

Fig. 2 Changes in Natto's temperature during fermentation

*: Inoculum size

Incubation temperature 30°C: A, 35°C: B

40°C: C, 45°C: D

Fig. 3 Changes in viable cell count of *B. natto* during fermentation

* : Inoculum size

A, B, C, D : See Fig. 2

経て定常期（室温 30℃ で発酵させたものは定常期の確認はできなかった）に至る変化を示した。

納豆菌の増殖開始はいずれも発酵 4 時間以内に始まり、対数期に「照り」、「糸引き開始」及び「灰緑色期」が観察され、納豆菌数が 10^8 /g 以上に達したときに「菌膜」が出現した。さらに定常期に達した頃に「菌膜消化」が観察された。

納豆菌の生育は、同室温であれば接種菌数の多いものほど、同一接種菌数であれば高い室温で発酵させたものほど速い傾向であった。また、定常期に達する時期と最高品温に達する時期とのタイムラグは、室温が高くなるほど接種菌数による影響はなくなり、室温 45℃・接種菌数 $10^4 \sim 10^6$ /g はほぼ同じ時期であった。最高菌数（室温 30℃ は発酵 30 時間の菌数）は、接種菌数により若干の違いはあるものの、室温 $45 < 30 \leq 35 \div 40^\circ\text{C}$ の順であった。なお、室温 45℃ では納豆菌の生育が速いにもかかわらず最高菌数が低かったのは、自らの発酵熱で増殖が抑制されたものと思われた。

通常の室出し時間の納豆菌数は、室温 30℃ のいずれの接種菌数のもの、及び室温 35℃・接種菌数 10^2 /g では定常期に至っておらず、室温 35℃・接種菌数 $10^4 \sim 10^6$ /g、及び室温 40, 45℃ のいずれも定常期であった。

4. 発酵中の硬度の変化

発酵中の硬度の変化を Fig. 4 に示した。硬度はいずれも発酵 4 時間以内に増加がはじまり、発酵 30 時間まで増加し続け、硬度と外貌との間に一定の関係は認められなかった。硬度は、同室温であれば接種菌数の多いもの、同一接種菌数であれば高い室温で発酵させたものは

ど、高かった。この傾向は、室温が高く、接種菌数が多いものほど顕著であった。

納豆の最適硬度は未だ明確にされていないが、500 g 以上のものでは官能的にかなり硬く感じられた。通常の室出しでこれに該当したものは、室温 40℃・接種菌数 10^6 /g 及び室温 45℃・接種菌数 $10^4 \sim 10^6$ /g で発酵させたものであった。

平ら⁹⁾は、多品種の大豆で納豆を製造し、蒸熟大豆と納豆の硬度の関係を精査しているが、その中でいずれの大豆を使用しても蒸熟大豆より納豆の硬度が高いことを確認している。本実験の結果はこれと一致した。

納豆の硬度が蒸熟大豆のそれよりも高くなるのは、発酵期間中の単なる水分飛散によることも考えられた。そこで、納豆菌を接種しない蒸熟大豆を PSP に盛り込み、納豆の発酵と同じ条件で 30 時間保持し、蒸熟大豆の硬度及び水分を経時的に測定した。結果は省略するが、各温度に保持した蒸熟大豆の硬度は、いずれも蒸熟直後のそれに比べて高かったものの、それぞれ対応する室温で発酵させた納豆の硬度に比べいずれも低かった。一方、各温度で保持した蒸熟大豆と納豆の水分の差は、無視できるほど小さかった。

これらのことより、納豆の硬度が蒸熟大豆より高くなるのは、発酵中の水分飛散が原因とは考えにくく、納豆菌の何等かの作用によると考えられた。納豆発酵中の硬度増加のメカニズムの検討は、今後の課題として残された。

5. 発酵中の色調の変化

発酵中の色調の変化を Fig. 5 に示した。なお、図示

Fig. 4 Changes in *Natto's* hardness during fermentation

*: Inoculum size

A, B, C, D: See Fig. 2

Fig. 5 Changes in *Natto's* color tone at different temperatures (inoculum size $10^4/\text{g}$) during fermentation

*: Room temperature

Y: ----, x: ·····, y: —

は代表例として接種菌数 10^4 /g 区のみにとどめ、他の区については省略した。Y 値は「照り」が観察されるまで僅かながら低下し、その後上昇した。Y 値の上昇開始は「糸引き開始期」が観察された頃より始まり、「菌膜」が観察され品温が最高になった頃、最高値を示した。その後、Y 値は室温 30°C ・接種菌数 10^2 /g で発酵させたものを除き、いずれも低下した。

Y 値が最高値に達する時期は、室温 30°C 、 35°C で発酵させたものは接種菌数の少ないものほど遅く、室温 40°C 、 45°C のそれは接種菌数にあまり関係なく発酵 12 時間前後であった。Y 値の最高値は、同室温では接種菌数の少ないもの、同一接種菌数では低い室温で発酵させたものほど高かった。蒸熟大豆上の「菌膜」の広がり弱い室温 45°C で発酵させたものは、Y 値の上昇が少なく最高値も低かった。これらのことより、Y 値の上昇は白色の菌膜状の物質によるものと思われた。

x, y 値はほぼ Y 値と逆の変化を示し、「糸引き開始期」が観察されるまで x, y 値は変化が少なく、「灰緑色期」の観察された頃より低下をはじめ、これが観察される間は低く推移した。また、数値は省略したが「灰緑色期」が観察された間、z 値 $(1-(x+y))$ は高い値を示し、測色値からも青味の増加していることが分かった。なお、外貌観察では 45°C で発酵させたいずれにも「灰緑色期」は観察されなかったが、測色値上では接種菌数 10^2 /g、 10^4 /g のものでわずかながら x, y 値の低下する時期が認められた。

一方、通常の室出し時間の色調は、次のようであった。

室温 30°C ：前述したように接種菌数 10^6 /g で発酵させたものであっても「灰緑色期」のステージであり、かつ「菌膜」が厚く、Y 値は高いが x, y 値が低かった。室温 35°C ：接種菌数 10^2 /g のものは Y 値及び x, y 値は室温 30°C ・接種菌数 10^6 /g とほぼ同じであった。しかし、接種菌数が多くなるほど Y 値は低く、x, y 値は高かった。室温 40°C ：同一接種菌数の室温 35°C で発酵させたものより Y 値は低い、x, y 値とも高かった。しかし、接種菌数 10^6 /g のそれは官能にかなり褐変し、過発酵気味の色調であった。室温 45°C ：接種菌数 10^2 /g であっても、Y 値が低く x 値が高い傾向を示した。官能的には、いずれも色が濃くかつ褐変したような色調であった。

通常の室出し時間の色調より判断すると、室温 30°C 及び 45°C の発酵条件は不適であり、室温 35°C ・接種菌数 $10^4 \sim 10^6$ /g 及び室温 40°C ・接種菌数 $10^2 \sim 10^4$ /g で発酵させた納豆が好ましいことが分かった。

要 約

発酵室温 (30°C , 35°C , 40°C , 45°C) 及び納豆菌の接種菌数 (10^2 , 10^4 , 10^6 /蒸熟大豆 1 g) を異にした納豆の発酵を行い、納豆の品質と直接関係のある外貌、納豆菌数、硬度及び色調を経時的に調べ、次の結果を得た。

1. 外貌観察より、発酵中の納豆はいくつかのステージを経ることが分かった。低い室温でかつ接種菌数の少ないものほど発酵は遅れた。逆に高い室温ほど発酵は進み、接種菌数が多いものほど早く過発酵しやすかった。

2. 納豆の品温は、設定室温あるいはその近辺まで一旦低下し、蒸熟大豆の表面が光沢をおび、濡れたようになった（「照り」の観察）頃より上昇し、蒸熟大豆の表面が白色の菌膜状の物質で覆われて（「菌膜」の観察）から最高値に達した。そして、最高値をしばらく保った後、品温は徐々に低下した。品温の上昇開始より品温の最高値までの時間は、接種菌数より室温の影響が大きく、高い室温で発酵させたものほど短かった。

3. 納豆菌数は誘導期、対数期を経て「菌膜」が部分的に溶けた（「菌膜消化」の観察）頃、定常期に至る変化を示した。納豆菌の生育は、同室温であれば接種菌数の多いものほど、同一接種菌数では高い室温で発酵させたものほど速かった。ただし、最高菌数（室温 30°C は発酵 30 時間の菌数）は室温 $45 < 30 \leq 35 \leq 40^\circ\text{C}$ の順であった。

4. 納豆の硬度は、発酵 30 時間まで増加し続け、同室温であれば接種菌数の多いものほど、同一接種菌数ならば高い室温で発酵させたものほど高くなった。

5. Y 値は、「照り」の観察された以後より上昇し、最高値を示した後、室温 30°C ・接種菌数 10^2 /g で発酵させたものを除き低下した。x 値・y 値は、Y 値のほぼ逆の消長を示した。また、蒸熟大豆の黄色が消失し、灰緑色を呈する期間は z 値が高く推移した。

6. 通常の納豆の発酵時間である 18～20 時間の外貌、硬度及び色調より、室温 35°C ・接種菌数 $10^4 \sim 10^6$ /g、室温 40°C ・接種菌数 $10^2 \sim 10^4$ /g で発酵させたものが品質的に好ましいと判断された。

文 献

- 1) 菅野彰重・高松春樹・高野伸子・秋本隆司：日食工誌，29，105（1982）。
- 2) KANNO, A. and TAKAMATSU, H.：日食工誌，34，330（1987）。
- 3) 菅野彰重・高松春樹・土橋 昇・渡部智子・高居

- 百合子：日食工誌，32，754（1985）。
- 4) 渡辺篤二・海老根英雄・太田輝夫共著：大豆食品（光琳書院，東京），p. 133（1970）。
- 5) 藤井久雄：農化，36，1000（1962）。
- 6) 藤井久雄：農化，37，474（1963）。
- 7) 伝染病研究所学友会編：細菌学実習提要（丸善，東京），p. 164（1985）。
- 8) 納豆試験法研究会編著：初版納豆試験法，p. 17（1990）。
- 9) 平 春枝・鈴木典男・塚本知玄・海沼洋一・田中弘美・斉藤昌義：食総研報，51，48（1987）。
- （平成 4 年 2 月 17 日受理）

新 刊 紹 介

Food Poisoning Anthony T. Tu 編

Marsel Dekker 社の Handbook of Natural Toxins シリーズの第 7 巻である。本巻では、いわゆる自然に存在する毒物について解説されている。Part 1 から 9 までの内容は、微生物が生産する毒、植物の毒、アレルギー原因物質、魚介類の毒、ゴイトロゲン、残留抗生物質、ニトロサミンとなっている。これらの毒の種類、毒性、化学構造、分析法、分布が参考文献とともに豊富に収められている。食品衛生に関係の研究者あるいは大学院レベルの教科書として勧められる。

(T)

180 × 252 mm, 624 頁, 1992 年刊

ISBN 0-8247-8652-1, 185 ドル

Marsel Dekker, Inc.

270 Madison Avenue, New York,

NY 10016 USA

食品保存便覧

食品保存に関する科学と技術が網羅されている。114 名の執筆者による項目が大項目主義のように分類され、目的の項目のみならずその周辺が一度に把握できる。基礎編と応用編に分かれ、細かい索引が付いている。

基礎編は保存に関係する微生物の役割から始まり、脂質の酸化や褐変などの化学、害虫、微生物の制御法、保存のための加工技術、包装、流通、機械装置と保存性の測定装置が記述されている。項目の配列は系統だっており、便覧を越えた理解が得られる。

応用編は農、水、畜産食品と嗜好食品の群に分かれ併せて 53 の食品の項目がたてられ、その周辺の関連食品が分類されている。食品ごとに品質保持技術と劣化因子、さらに簡潔な製造方法、そして包装への細かい具体的な対応が記されている。

企業の技術者の問題解決の手引になる。また、大学で食品加工・貯蔵学などの講義が少なくなった現在、教育研究にも利用できる内容である。

(Ho)

19 × 26.5 cm, 1270 ページ

1992 年 6 月発行, 49,440 円

(株)クリエイティブジャパン

〒101 東京都千代田区内神田 3-5-5 (大同ビル)