低食塩漬物用の乳酸菌スターターカルチャーの開発

石川健一*・加藤丈雄*・小宮孝志**

Development of Lactic Starter Cultures for Hyposalt Pickles

Kenichi ISHIKAWA*, Takeo KATO* and Takashi KOMIYA**

* Food Research Institute, Aichi Prefectural Government, 2-1-1,
Shinpukuji-cho, Nishi-ku, Nagoya-shi, Aichi 451-0083

** Faculty of Bioresources, Mie University, 1515, Kamihama-cho, Tsu-shi, Mie, 514-0008

Screening of psychrotrophic lactic acid bacteria and their application to pickle-fermentation as starter cultures were investigated. Nine strains of lactic acid bacteria grew well at 10°C in model pickles using radishes. Among them, *Leuconostoc* sp. D-33 (D-133) and *Lactobacillus casei* L-14 (L-14) proliferated well at 10°C in the radish-pickles and prevented the growth of undesirable bacteria, even though no sodium chloride was added. The use of these lactic acid bacteria as starter cultures apparently improved qualities of radish-pickles after 60 days of fermentation. D-133 produced 2,3-butanediol contributing to favorable flavors, and L-14 increased the amount of glutamic acid contributing to good taste. Furthermore, these lactic acid bacteria considerably prevented browning of radish-pickles. These results indicated that hyposalt-pickles can be prepared easily by the use of these psychrotrophic lactic starter cultures. (Received Dec. 10, 1998 ; Accepted, Jan. 30, 1999)

従来、漬物は保存食品として、高食塩濃度で比較的長期間漬込まれて製造されてきた。そうすることにより、主に耐塩性の乳酸菌と酵母が生育し、良好な旨味、酸味、香味が付与された。しかし、近年日本人の食生活は著しく変化し、食塩の過剰摂取の防止のため、漬物も低食塩化傾向となった¹⁾。低食塩濃度で野菜を漬込むと、原材料や容器に付着していた腐敗菌や生酸性の高い乳酸菌が増殖し、組織の軟化、変色、不快臭の発生などを引き起こす。それらを防止するために、原料野菜の低温殺菌、酸味料やキトサン²⁾などの保存料の添加、製品の低温管理などが行われている。しかし、これらの処理は有用微生物の生育も阻止するために、発酵による風味の形成が阻害されることになる。

ヨーグルト、チーズなどの発酵乳製品では、乳酸菌をスターターカルチャーとして利用する製法が一般的である。それらの利用は、食中毒菌や腐敗菌の生育阻止、品質の均一化、製造期間の短縮、好ましい風味の形成など

の優れた利点がある³⁾。一方、漬物の製造では、乳酸菌を初めとするスターターカルチャーの利用技術はまだ確立されていない。これは従来の漬物は食塩含有量が高く、また主に冬季に製造されるため、野菜に付着している腐敗微生物の生育が抑制され、自然界に存在する微生物の中で主に乳酸菌や酵母などの有用微生物の作用によって、漬物が製造されたことによるものと考えられる。低食塩漬物の製造法に於いて、乳酸菌は従来の製法で食塩がはたしてきた腐敗微生物の生育抑制効果を代替できることが期待される。漬物に乳酸菌スターターカルチャーを利用する場合、良好に発酵した漬物から乳酸菌を分離し、これを利用する方法が試みられている。しかし、発酵期間の経過にともなって乳酸菌叢が変化するため、分離した乳酸菌が必ずしも良好な発酵に寄与しているのか否か疑わしいという問題点がある。また、低食塩や無塩の漬物にこれらの乳酸菌を接種すると、発酵の制御が困難で、過発酵を招く危険もある。寒冷な気候を利用して製

* 愛知県食品工業技術センター (〒451-0083 愛知県名古屋市中区新福寺町 2-1-1)

** 三重大学生物資源学部 (〒514-0008 三重県津市上浜町 1515)

造される無塩発酵漬物として「すんき漬」が知られている^{4)~7)}。すんき漬は原料野菜が低温で漬込まれるので、乳酸菌の急激な増殖が抑制されて発酵の制御が容易となり、さらに原料野菜に由来する収斂味の消去、旨味の増加、香気の生成などの温和な熟成が進行することが知られている。したがって低温発酵は低塩もしくは無塩の漬物の製造にとって有力な方法と考えられる。

本研究では、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て、野菜、果物から分離された菌株、および酪農用菌株について、大根を用いたモデル系を利用して低温発酵能を有する乳酸菌を選択した。さらに、この乳酸菌を利用して60日間発酵を行った大根漬を調製し、乳酸菌による品質に対する効果などについて検討を行った。

実験方法

1. 実験材料と乳酸菌株

原料として、岐阜県産の「耐病総太り」(平均重量880g, 平均長360mm)、および群馬県産の「献夏」(平均重量1000g, 平均長320mm)の2種類の太根を用いた。乳酸菌は各種食品から分離した当センター保存菌株(7株)、(財)発酵研究所保存菌株(IFO, 21株)、東京農業大学保存菌株(NRIC, 6株)、東京大学分子細胞生物学研究所保存菌株(IAM, 2株)、American type culture collection 保存菌株(ATCC, 3株)、北海道大学農学部保存菌株(AHU, 1株)、(財)日本乳業技術協会保存菌株(8株)の合計48菌株を使用した。使用した乳酸菌株の一部をTable 1に示した。乳酸菌はMRS培地で30℃、24時間培養して実験に供した。

2. スターターカルチャー用乳酸菌の選択

「耐病総太り」を原材料として、低温スターターカルチャー用乳酸菌を選択した。20リットルの水槽に大根を約5kg(5本)入れ、10分間通水洗浄し、続いて殺菌のため、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度100μg/ml, 酢酸0.1g/100ml)に30分間浸漬し、水道水、滅菌生理食塩水で洗浄した。この大根を先端部、中央部、下部に三分割し、中央部の皮を約5mmの厚さで除去した。皮を除去した部分を1cm角の大きさに切断し、実験に供した。以後この条件で調製した大根をカット大根と略記する。

カット大根50gと滅菌した1%グルコース溶液50gを滅菌強化ポリエチレン製袋(100×150×0.09mm)に入れた。これに乳酸菌を 10^7 /gとなるように接種し、10℃で培養した。なお、乳酸菌懸濁液は、MRS培地で

30℃、24時間培養後、遠心分離(1700×G, 10min.)して集菌し、滅菌生理食塩水にけん濁して調製した。所定期間培養した試料について、乳酸菌数、pHおよび外観観察により選択を行った。

3. 乳酸発酵大根の調製

「献夏」を使用して上記と同様にカット大根を調製した。カット大根50gと滅菌蒸留水50gを滅菌強化ポリエチレン袋に入れ、スターターカルチャーとして乳酸菌を 10^7 /gとなるように接種し、これを10℃、60日間発酵させた。所定期間発酵させた試料について、乳酸菌数の測定、および有機酸組成、香気成分組成、遊離アミノ酸組成、色調の分析を行った。

4. 乳酸菌数の測定

大根部(固形物)を試料として、BCP加プレートカウント寒天培地(日水製薬製)を用い、平板培養法で35℃、72時間培養後に出現した黄変コロニー数を測定した。

5. 化学分析

大根部50gと漬汁部50gとを合わせてホモジナイズした後、濾過(No.2濾紙、アドバンテック製)して化学成分分析用試料溶液とした。

(1) 有機酸組成

試料溶液をセルロースアセテートフィルター(孔径0.45μm, アドバンテック製)で濾過した。これをカルボン酸分析計S-14型(東京理化学器械製)を使用して有機酸組成を測定した。

(2) 香気成分

試料溶液1mlに2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン(2, 4-DNPH)溶液1mlを加えて27℃で2時間反応後、遠心分離した。上澄液をセルロースアセテートフィルター(孔径0.45μm)で濾過し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)システム(LD-10 AV, SPD-10 AV, 島津製作所製)によってアセトアルデヒド、ジアセチル、アセトインの量を測定した⁸⁾。条件は次のとおりである。

カラム, Zorbax BP-ODS (4.6×250mm, DuPont社製); カラム温度, 50℃; 移動相, 45% アセトニトリル溶液(1ml/min.); 検出波長, 365nm. DNPH溶液は2, 4-DNPH(ガスクロ工業製)50mgをメタノール70mlと塩酸10mlで溶解させ、冷却後にアニリン20mlを加えて調製した。試料溶液について、ガスクロマトグラフィーシステム(GC-4CM, 島津製作所製)を使用して、2,3-ブタンジオール量を測定した。条件は次のとおりである。

カラム: PEG-20M, Uniport HP (3mm×2m); カラム温度; 130℃, キャリヤーガス: N₂, 40ml/min.:

H₂, 1 ml/min.: エアー, 0.7 ml/min., 検出器: FID

(3) 遊離アミノ酸組成

試料溶液について, 1% スルホサリチル酸によって除蛋白後, セルロースアセテートフィルターで濾過し, 高速アミノ酸自動分析計 (L-8500 型, 日立製作所製) を使用して測定を行った.

(4) 色値 (L, a, b 値)

大根の表面色を色差計 (ND-Σ 80 型, 日本電色工業製) を用いて測定した. 試料台口径は 6 mm とし, 試料を 10 回測定後, その平均を値とした.

実験結果

1. スターターカルチャー用乳酸菌の選択

グルコースを添加したカット大根を用いて, 低温下で増殖できる乳酸菌を選択した. 供試した 48 株の乳酸菌のうち, 9 株が 10°C で増殖した. すなわち, 10⁷/g 接種した乳酸菌は 10°C, 48 時間の培養で 10⁸/g 以上に増殖した (Table 1). 培養後の大根の pH は 4.3 から 5.9 と乳酸菌によって有意な差が認められた. 中でも, *Leuconostoc* sp. D-133 株と *Lactococcus diacetylactis* N-7 株は, 24 時間培養で 10⁸/g 以上に増殖して, 48 時間後に大根の pH をそれぞれ 4.3 と 4.6 と著しく低下させた. さらに続けて 14 日間培養すると, 乳酸菌を接種した

大根は若干軟化するものの, 変色や腐敗臭は認められなかった. 一方, 乳酸菌を接種しない対照では, 培養 14 日後に細菌と酵母が増殖し, 大根は著しく軟化して, 酸敗臭, エステル臭を発生して明らかに腐敗した.

10°C 培養で増殖した 9 株の乳酸菌のうち, 好ましい香気を形成した *Leuc.* sp. D-133 株と *Lactobacillus casei* L-14 株の 2 株についてさらに詳細に検討した. なお, 両乳酸菌は以後 D-133 株, L-14 株と略記する. D-133 株は小松菜から分離した乳酸菌であり, L-14 株はヨーグルト製造用の乳酸菌である. また, 大根には約 2% の糖類が存在し, これらの乳酸菌はグルコース無添加でも増殖可能であったため, 以後の実験においてはグルコースは無添加とした.

2. 乳酸発酵大根の微生物変化と化学分析

Fig. 1 に乳酸菌を接種して 10°C, 60 日間発酵させた大根の乳酸菌数と pH の変化を示した. D-133 株, L-14 株ともに培養 14 日後にほぼ最大菌数, 4.7×10⁸/g, 1.8×10⁸/g に達した. その後, 乳酸菌数は徐々に減少したが, 60 日経過してもそれぞれ 7.2×10⁷/g, 2.0×10⁸/g と多数が生残した (Fig. 1-a). 大根の pH は乳酸菌の増殖に伴って低下した. L-14 株と比較して, D-133 株接種はより急速に大根の pH を低下させたが, 30 日経過するとどちらもほぼ同じ値を示し, 60 日後には両者とも 3.4 と

Table 1 Growth of lactic acid bacteria in radishes fermented at 10°C with 1% glucose

Lactic acid bacteria	Origin	Fermentation time (day)					
		0		1		2	
		cfu/g	pH	cfu/g	pH	cfu/g	pH
<i>Leuconostoc</i> sp. D-133	from Komatsuna ^{*1}	3.1×10 ⁷	5.9	1.3×10 ⁸	5.2	2.2×10 ⁸	4.3
<i>Pediococcus</i> sp. AG-1	from Mochi-koji ^{*1}	3.4×10 ⁷	6.0	8.4×10 ⁷	5.4	1.0×10 ⁸	5.4
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 14432	3.4×10 ⁷	5.7	6.9×10 ⁷	5.9	1.0×10 ⁸	5.9
<i>Lactococcus diacetylactis</i> N-7 ^{*2}		5.7×10 ⁷	5.7	1.8×10 ⁸	4.9	4.8×10 ⁷	4.6
<i>Lactococcus lactis</i> SC-10 ^{*3}		3.8×10 ⁷	5.8	9.8×10 ⁷	5.6	1.3×10 ⁸	5.2
<i>Lactobacillus acidophilus</i> A-100 ^{*1}		1.5×10 ⁷	5.8	4.0×10 ⁷	6.2	1.7×10 ⁸	5.8
<i>Lactobacillus casei</i> L-14 ^{*2}		1.8×10 ⁷	5.8	7.6×10 ⁷	5.9	1.2×10 ⁸	5.8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	AHU 1526	2.4×10 ⁷	5.8	3.7×10 ⁷	5.7	1.1×10 ⁸	5.5
<i>Lactobacillus plantarum</i> N-3-2	from Nuka-tsuke ^{*1}	1.8×10 ⁷	6.0	3.6×10 ⁷	5.8	1.0×10 ⁸	5.4
Control (no lactic acid bacteria)		1.1×10 ³	5.8	2.7×10 ³	5.9	8.3×10 ³	6.0

^{*1} Our strains.

^{*2} Culture collection of Japan Dairy Technical Association.

^{*3} Culture collection of National Institute of Animal Industry.

Fig. 1 Changes in viable counts of lactic acid bacteria and pH during lactic acid fermentation of radishes

○, *Leuconostoc* sp. D-133; □, *Lactobacillus casei* L-14; Fermentation temp., 10°C.

なった。D-133, L-14 株接種した試料とも、全期間を通じて乳酸菌以外のコロニーは認められず、腐敗臭などもないことから原料由来の汚染菌の増殖は阻止されたと考えられた。一方、乳酸菌を添加しない大根では、培養7日後に著しい変色を生じて腐敗した。

Table 2 に D-133 株と L-14 株をそれぞれ接種して培養した大根の有機酸組成を示した。D-133 株接種大根の全酸量は急速に増加して培養3日後に 190.2 mg/100 ml となり、その後も増加して60日後には 886.7 mg/100 ml に達した。大根の pH は 5.9 から培養3日後には 4.4 と急速に低下した。D-133 株はヘテロ型乳酸発酵菌であるため、培養中に乳酸のほか酢酸を大量に生成し、培養60日後に酢酸は 340.0 mg/100 ml に達した。リンゴ酸は培養開始時に 54.0 mg/100 ml であったが、培養7日後に 1.5 mg/100 ml と急速に減少した。また、微量のグルクロン酸、クエン酸、コハク酸が検出されたが、その量は培養中にほとんど変化しなかった。一方、L-14 株接種大根の全酸量は、D-133 株接種と比べて緩やかに増加

Table 2 Changes in the amounts of organic acids during lactic acid fermentation of radishes

a) *Leuconostoc* sp. D-133

Organic acids	Fermentation time (day)						
	0	1	3	7	14	30	60
Glucuronic acid	1.3	2.3	1.4	1.7	1.6	1.6	1.9
Lactic acid	0.0	22.0	116.0	260.0	310.0	380.0	540.0
Acetic acid	0.0	7.5	53.0	120.0	160.0	210.0	340.0
Malic acid	54.0	53.6	17.0	1.5	0.2	0.1	0.1
Citric acid	2.5	1.7	1.5	1.5	1.7	1.9	2.5
Succinic acid	0.8	1.8	1.3	2.3	2.2	2.2	2.2
Total	58.6	88.9	190.2	387.0	475.7	595.8	886.7

b) *Lactobacillus casei* L-14

Organic acids	Fermentation time (day)						
	0	1	3	7	14	30	60
Glucuronic acid	1.3	1.9	1.6	1.8	8.7	3.6	2.4
Lactic acid	0.0	14.7	42.3	97.0	370.0	340.0	440.0
Acetic acid	0.0	1.9	0.9	2.6	6.2	7.0	9.0
Malic acid	54.0	52.0	38.9	19.5	4.3	0.9	0.2
Citric acid	2.5	1.8	2.0	2.6	3.0	2.1	2.1
Succinic acid	0.8	1.4	1.3	0.6	0.8	5.5	1.6
Total	58.6	73.4	87.0	124.1	393.0	359.1	455.3

Values were shown as mg/100 ml.

し、培養3日後には87.0 mg/100 ml、培養60日後では455.3 mg/100 mlとなった。L-14株はホモ型乳酸発酵菌であるため、主として乳酸を生成し、わずかに酢酸の生成がみられた。リンゴ酸は徐々に減少し、培養14日後に4.3 mg/100 mlとなり、D-133株接種よりも減少はゆるやかであった。

乳酸菌を接種して培養した大根にはさまざまな香気が生じ、D-133株とL-14株接種大根でも明らかに異なった。そこで、発酵乳やワインなど乳酸菌が関与する食品の主要な香気成分であるアセトアルデヒド、アセトイン、ジアセチル、2, 3-ブタンジオール量の測定を行った (Fig. 2)。なお、一般に2,3-ブタンジオールは好ましい香気であるといわれ、アセトアルデヒド、アセトイン、ジアセチルはごく微量の存在は好ましいが、一定量以上存在すると好ましくない香気といわれている⁹⁾。D-133株接種ではアセトアルデヒド、アセトイン、ジアセチルは培養60日後でもほとんど生成しなかったが、2,3-ブタンジオールは14日経過後で62 µg/ml、60日経過すると220 µg/ml以上となった。一方、L-14株接種では少量のアセトアルデヒド、アセトインが生成した。アセトアルデヒドは培養30日後で69 µg/mlに達し、その後減少して60日後には33 µg/mlとなった。アセトインは徐々に増加し、60日後には130 µg/mlとなった。一方、2,3-ブタンジオールの生成はわずかで、培養60日後にmeso体が25 µg/ml、DL体が11 µg/mlであった。これらの

Fig. 2 Changes in flavor composition during lactic acid fermentation of radishes

(a) *Leuconostoc* sp. D-133, (b) *Lactobacillus casei* L-14.

○, DL-2,3-butanediol; △, meso-2,3-butanediol; ●, acetoin; ▲, diacetyl; ■, acetaldehyde.

Fermentation temp., 10°C.

ことがL-14株とD-133株を接種した大根の香気が異なる原因の1つと考えられた。

乳酸菌を接種して培養した大根は呈味が向上したと思われた。そこで、遊離アミノ酸組成の測定を行った (Table 3)。対照としてカット大根に蒸留水を加え、乳酸菌を接種せず、アジ化ナトリウムを0.1%添加したものを10°Cで培養した。原料大根と比較すると、対照ではグルタミンが減少し、グルタミン酸、グリシン、ロイシン、リジンが増加した。D-133株接種では顕著な変化はなく、アスパラギン酸、グルタミン、アルギニンがわずかに減少した。一方、L-14株接種ではグルタミンは原料大根において103.0 mg/100 gであったが、発酵60日後には43.0 mg/100 gと大きく減少した。また、うま味成分であるグルタミン酸は原料大根は2.6 mg/100 gであったが、発酵60日後に16.0 mg/100 gと大きく増加した。この結果は対照での増加よりも大きかった。総遊離アミノ酸量は乳酸菌接種によって減少したが、これは乳酸菌によって資化されたためと推定された。

Fig. 3に発酵大根の色調 (L, a, b) の変化を示した。対照では徐々に大根の変色が生じ、培養60日後には大根と漬液が淡褐色となった。対照大根のL値 (明るさ) は培養14日まで急激に減少し、その後も徐々に減少し、培養60日後に35となった。a値 (正值: 赤色, 負値: 緑色) は培養3日後に一旦減少し、培養14日まで増加した後、最終的に-1となった。b値 (正值: 黄色, 負値: 青色) は顕著に増加し、大根が黄色化したことが示された。D-133株を接種した大根では肉眼的には白色が維持された。しかし、L値は大きく減少し、対照とほぼ同じ値を示した。a値は対照と比べて有意に低い値を示した。b値も著しく減少し、-1から-1.5と負の値を示した。このことは大根の黄変が阻止されたことを示す。L-14株を接種した大根は肉眼的には若干褐変した。しかし、L値は3者の中で最も高い値を示し、a値は培養60日後にはD-133株接種大根とほぼ同じ値を示した。一方、b値はいったん減少した後、再び増加し、対照大根とD-133株接種大根の中間の値を示した。以上の結果から、乳酸菌の接種により、大根のa値とb値の増加が有意に抑制されており、乳酸菌接種による変色防止効果が確認された。

考 察

乳酸菌スターターカルチャーの目的の一つとして、発酵中の有害微生物の生育阻止がある。腐敗防止のためには、できる限り微生物汚染のない原材料を使用する必要

Table 3 Changes in the amounts of amino acids during lactic acid fermentation of radishes

Amino acids	Fermentation time (day)					
	D-133		L-14			Control
	0	14	60	14	60	14 60
Asp	4.2	1.5	1.9	1.6	2.2	3.2 3.4
Thr	2.6	2.6	3.1	2.3	2.2	4.7 4.8
Ser	3.6	2.3	2.6	2.1	1.7	3.5 3.6
Asn	7.2	6.2	7.1	4.5	0.0	7.1 7.1
Gln	103.0	79.0	74.0	81.0	43.0	83.0 89.0
Glu	2.6	3.5	5.3	9.8	16.0	3.7 6.2
Gly	0.7	1.2	1.2	0.9	1.2	1.8 2.1
Ala	3.6	5.0	5.4	4.3	3.0	7.2 7.4
Met	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1	1.0 1.1
Ile	2.4	1.7	1.9	1.5	1.7	5.5 5.5
Leu	0.7	0.6	1.0	0.5	0.7	3.3 3.8
Tyr	0.8	0.8	0.8	0.4	0.5	2.1 2.1
Phe	1.3	1.1	1.0	0.6	0.7	3.2 2.9
Trp	0.3	0.2	0.0	0.0	0.0	0.9 0.8
Lys	0.9	0.5	0.8	0.7	0.8	3.5 4.6
His	1.4	1.5	1.8	1.5	1.5	1.9 1.9
Arg	7.3	10.0	13.0	11.0	4.5	3.4 5.1
Pro	3.7	2.1	2.9	2.0	2.4	2.6 2.7
Total	146.6	120.0	124.1	124.9	82.2	141.6 154.1

Values were shown as mg/100 ml.

Fig. 3 Changes in color (L, a, b) during lactic acid fermentation of radishes

(a) L value, (b) a value, (c) b value.

○, *Leuconostoc* sp. D-133; □, *Lactobacillus casei* L-14; ●, control.

Fermentation temp., 10°C.

がある。原料大根の洗浄について検討した結果、水洗した新鮮な大根の表面部に $10^5 \sim 10^6$ /g の生菌数が検出されたが、本実験では次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素量 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）と酢酸（ $0.1 \text{ g}/100 \text{ ml}$ ）を併用して 30 分間浸漬することにより、大根中心部の生菌数を約 $300/\text{g}$ とすることができた。しかし、 5°C で 14 日間以上大根を貯蔵すると、同様の処理を行っても生菌数は $10^3/\text{g}$ 以下にはならなかった（データ省略）。これは野菜表面に付着していた微生物が大根の組織内部に侵入するため、表面の殺菌だけでは生菌数が減少しないためと考えられた。実際の漬物製造においては、新鮮な大根の中心部のみを使用することは事実上不可能である。また、次亜塩素酸ナトリウムを多量に使用すると残留が危惧され、好ましいことではない。乳酸菌無添加で発酵大根を調製した結果、培養 7～14 日後に全て腐敗した。従って、食塩無添加で漬込みを行うためには、乳酸菌の接種は不可欠と考えられた。本研究では、D-133、L-14 株接種により、無塩で 60 日間培養しても腐敗は阻止できた（Fig. 2）。一般に乳酸菌は複雑な栄養要求性を示し、増殖のため糖類、アミノ酸、ビタミンなどを必要とする。しかし、本実験において D-133 株、L-14 株は何ら栄養補給することなく 10°C で緩やかに増殖し、大根の長期の発酵を行うことができた。自然発酵した漬物においては、しばしば *Lb. plantarum* が $10^8/\text{g}$ 以上に増殖して酸敗、変色、漬汁の濁りなどを生じることが報告されている¹⁰⁾。これらの現象を生じた漬物は商品的価値を失う。食塩による抑制効果の小さい低食塩タイプの漬物にとっては、乳酸菌の過度の増殖は深刻な問題となる。長期間の発酵熟成を行う無塩もしくは低食塩漬物においては、糖類やアミノ酸などの補給は急激で過度の乳酸発酵を招き、漬物を変敗させる可能性がある。したがって、乳酸発酵は本実験で示したような単純な漬込み条件が望ましいと思われる。すんき漬なども栄養補給されることなく、無塩で長期間の漬込みが行われている。

発酵漬物の生産量が少なくなった原因の一つに、発酵漬物独特の香りの敬遠がある。漬物用スターカチャー乳酸菌にとって、好ましい香気成分の付与が重要である。小松菜から分離した D-133 株接種では好ましい香気が生成した。ジアセチル、アセトインはほとんど生成せず、2,3-ブタンジオールの生成量が多くみられた（Fig. 2）。宇井ら¹¹⁾によれば、2, 3-ブタンジオールはワインの「こく」、「まろやかさ」に関与する化合物であり、適度に含まれていると良好なワインとなることが報告されている。2,3-ブタンジオール含量、立体異性体の比率

と発酵漬物の風味との関係についてはさらに検討が必要であるが、適度な存在は風味向上に寄与すると考えられた。D-133 株はヘテロ型乳酸菌であるため、多量の酢酸が生成し、このことも好ましい香気の生成に寄与していると思われる。

一般に遊離アミノ酸組成は食品の呈味に大きく関わっており、うま味を示すアスパラギン酸、グリシン、グルタミン酸などが増加し、苦味を示すリジン、フェニルアラニンなどが減少することが望ましい。L-14 株を接種した大根では、発酵の経過とともにグルタミンが減少し、うま味を示すグルタミン酸量が増加した（Table 4）。*Lb. casei* はプロテアーゼ活性が比較的強いことが知られており、大根中のたんぱく質が分解されてグルタミン酸が増加したと推定されるが、乳酸菌のグルタミンナーゼ活性についての報告¹²⁾もあり、今後の検討が必要である。近年、消費者の安全性志向から、合成着色料や非原料由来の着色料を忌避する傾向が強く、漬物の色は原料野菜自身の色を製品に生かすことが望ましい。発酵漬物でも一定期間を経ると漬物中の糖、アミノ酸、辛味成分などの反応に由来する化学的変色が生じることがある。乳酸菌は酸化還元電位を低下して褐変を防止することが知られており、味噌の褐変防止に効果をあげている¹³⁾。本実験においても、D-133 株、L-14 株を接種することによって、大根の変色を防止することが認められた（Fig. 3）。

以上の結果を総合すると、発酵漬物用スターカチャー乳酸菌の性質として、以下の性質が望ましいと考えられた。1) 栄養補給をしない単純な漬込み条件下で増殖し、過度の増殖と pH 低下を生じないこと、2) 低温増殖能を有すること、3) 有害微生物の生育を阻止できること、4) 好ましい香気成分を生成すること、5) 漬物の変色を防止できること、6) 非病原性であること。なお、耐塩性は不要であり、またホモ型、ヘテロ型乳酸菌のどちらも使用可能と思われた。D-133、L-14 株はこれらを全て満足した。より豊かな風味を醸成し、さらにファージ汚染に対応するためには、混合スターカチャーとすることが必要であり、現在検討を行っている。

要 約

発酵漬物に乳酸菌スターカチャーを利用することを目的とし、乳酸菌の選択と風味の向上効果について検討を行った。

(1) 供試した 48 菌株の乳酸菌のうち 9 株は低温増殖能を有していた。特に *Leuconostoc* sp. D-133 株、*Lacto-*

bacillus casei L-14 株は何ら栄養補給することなく緩やかに増殖し、有害微生物の生育を阻止して長期発酵を行うことができた。

(2) 乳酸発酵大根の香気成分分析を行った結果、D-133 株を接種して 60 日を経過すると「こく」や「まろやかさ」に関与するといわれている 2,3-ブタンジオールが 220 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 生成した。また、一定量以上の生成で不快臭となるアセトアルデヒド、アセトイン、ジアセチルはほとんど生成しなかった。

(3) L-14 株接種では遊離のグルタミン酸は培養開始時に 2.6 mg/100 g であったのが、発酵 60 日後に 16 mg/100 g となり、うま味成分が増加することが明らかとなった。

(4) D-133 株、L-14 株を接種した大根では、対照と比べて a 値と b 値の増加が抑制され、肉眼的にも白色が維持されたことから、乳酸菌接種による変色防止効果が確認された。

文 献

- 1) 小川敏男：漬物製造学（光琳，東京），p. 32（1989）。
 - 2) 橋本俊郎：日食工誌，**45**，368（1998）。
 - 3) 宮坂勇一郎：New Food Industry，**28**，16（1986）。
 - 4) 中山大樹：農化，**23**，497（1951）。
 - 5) 板橋雅子：日食工誌，**30**，719（1983）。
 - 6) 板橋雅子・高村範子：日食工誌，**32**，120（1985）。
 - 7) 板橋雅子・高村範子：日食工誌，**32**，208（1985）。
 - 8) 松浦弘明・藤山勝二・皆川憲夫・澤 潤一：分析化学，**39**，405（1990）。
 - 9) 北村英三・久保成司・加藤司郎：埼玉県食品工業試験場業務報告，平成 6 年度，45（1994）。
 - 10) 加藤司郎・関 昌子・金内長司・中瀬 崇：日食工誌，**36**，357（1989）。
 - 11) 宇井定春・増田 博・村木弘行：発酵工学，**64**，161（1986）。
 - 12) 赤堀四郎ら：酵素ハンドブック（朝倉書店，東京）p. 532（1966）。
 - 13) 今井 学：信州味噌研究報告，**30**，18（1989）。
- （平成 10 年 12 月 10 日受付，平成 11 年 1 月 30 日受理）