

新規減塩漬物の製造技術の開発

鶴菌 大* 細井永次* 富永達矢* 常見崇史*

Development of the technique for producing reduced-salt pickles

TSURUZONO Masaru*, HOSOI Eiji*, TOMINAGA Tatsuya*, TSUNEMI Takashi*

抄録

新風味を有する減塩漬物の開発に向けて、米麴と乳酸菌を組み合わせることで、新たな調味資材となる乳酸発酵麴を製造する方法を検討した。埼玉県産としての個性を出すため、県内の漬物製造業者から収集した漬物から新たに乳酸菌を分離・選抜し、耐塩性乳酸菌1株、耐酸性乳酸菌3株を得ることができた。新たに分離した乳酸菌と当所保有の乳酸菌を添加して乳酸発酵させた麴を用いて、適宜塩分を調整したうえで野菜を用いた試作漬を行ったところ、良好な結果が得られた。

キーワード：漬物，麴，乳酸菌

1 はじめに

少子高齢化による食需要の全体的な縮小が懸念される中で、漬物においても生産量の減少が続いている¹⁾。漬物業界では、従来からある商品について品質改善、生産コスト削減を進めるとともに、高付加価値な新商品を投入することが、この状況を改善するために求められている。

一方、消費者の食生活の改善意識として、野菜の摂取機会を増大し、塩分の摂取量を減少させたいとの声は多い²⁾。塩分の使用を抑えた条件で製造された野菜漬物は、この嗜好に対応することになるから、潜在的な需要は高いと考えられる。

本研究では、新風味を有する減塩漬物の開発につなげるために、米麴と乳酸菌を組み合わせる新たな埼玉県産調味資材の製造方法を検討した。麴にはアミラーゼやプロテアーゼ等の酵素が含まれ、甘みと旨味を伴う特有の風味を醸し出す能力がある。麴を活用した漬物として、すでに、べったら

漬等が存在するものの、生産量は全体の2%未満という状況であり、さらに拡大させるには、麴以外の新たな風味を工夫する余地がある。乳酸菌は乳酸をはじめとする酸を生成し、食品にさわやかな酸味を付与することから、機能的乳酸菌を選抜してスターターとして漬物に添加することが行われている^{3),4)}。調味資材の糖化麴は水分活性が低くそのままでは発酵しにくいいため、適切な乳酸菌を選択し、発酵条件を検討する必要がある。県産の発酵麴としての特色を出すため、新たに県内の漬物事業者から入手した漬物から乳酸菌の分離を試みた。

2 実験方法

2.1 乳酸菌の入手

2.1.1 県産漬物からの乳酸菌の分離

県内漬物製造業9者から漬物漬け汁23種を採取した。それらをMRS寒天培地で37℃、5日間嫌気培養した後、出現したコロニーを大きさや色形の違うものから、それぞれ20個づつ、計460個採取

* 北部研究所 食品・バイオ技術担当

した。引き続き、MRS液体培地で37℃、5日間静置培養し、pH試験紙によりpHを測定した結果、pH3.6以下に下がった184個を得た。それらが全てグラム染色に陽性であり、乳酸を生成することを確認した。なお乳酸の定量は(株)アタゴ製酸度計PAL-ACID3を用い、ヘテロ型乳酸菌である*Lactobacillus brevis* NBRC3345を対照として、同程度以上の乳酸生成量を示したものを選別した。

2.1.2 乳酸菌の選抜

米麴エキスに 10^6 CFU/ml添加し、37℃、2日間培養して 10^7 CFU/mlに増殖する菌の中から、塩分8%の麴エキス中で増殖可能なものを耐塩性乳酸菌とした。

また、酸性下でも長期間生残することのできる乳酸菌を以下の方法で選抜した。MRS液体培地で37℃、5日間培養した菌体を、室温で30、60、90日間放置後、再びMRS寒天培地で37℃、5日間の条件で嫌気培養し、最終的に90日後の1mL当たりの残存数が多い乳酸菌を耐酸性乳酸菌として選抜した。

2.1.3 菌種の簡易同定

本研究で選抜した乳酸菌について、アピ50CH+アピ50CHL培地(ピオメリュー)により、糖の資化性を確認し、ApiWeb(ピオメリュー)により菌種を簡易同定した。

2.2 乳酸発酵麴の小規模試作

新たに分離した乳酸菌のうち、低水分活性条件での増殖が見込まれる耐塩性のH1株、当所で保有していた乳酸菌B5株⁵⁾、E37株⁶⁾を用いて、乳酸発酵麴を100gスケールで試作した。県内業者で製造された乾燥米麴に対して水を重量比1:1.5になるように加え、適宜攪拌しながら60℃で8時間加熱し、在来菌の抑制を図りつつ、麴を糖化した。乳酸菌はそれぞれMRS液体培地にて30℃で2日間培養した後、5000rpmで10分間遠心分離し、沈殿として菌体を回収した。沈殿を水で懸濁し、同様に遠心分離し、菌体を2回洗浄した後、適宜水を加えて菌液を調製した。糖化した麴100gに対して、菌液の添加量を変化させて30℃で3日間発酵させた。発酵経過のpHをIONメーターIM-40S(TOA)、屈折糖度(Brix)をデジタル屈折計

DBX-55(アタゴ)、水分活性(Aw)をAQUA LAB CX-2(Decagbn Devices)、乳酸菌数をアジ化ナトリウム10ppm、シクロヘキシミド100ppm添加したMRS寒天培地で30℃、2日間の嫌気培養、酵母菌数をプロピオン酸ナトリウム0.2%、クロラムフェニコールを100ppm添加したポテトデキストロース寒天培地で30℃、2日間の好気培養でそれぞれ確認した。

2.3 乳酸発酵麴の中規模試作

実用条件に近づけた試作として、攪拌装置を装着した10Lタンクを使用して、乳酸発酵麴を10kgスケールで試作した。タンク内部に設置した蛇管への温水供給ならびにタンク外側のジャケットからの加温で温度制御をした。麴中での乳酸発酵は、種発酵と本発酵の2段階で実施した。種発酵で使う麴は、乾燥米麴250gに水500gを加え、上記と同様に糖化した。冷却後、小規模試作と同様に調製した菌液を加えて、30℃で2日間発酵させ、種発酵麴とした。本発酵で使う麴は、乾燥米麴3.75kgに温水5.625kgを加え、45℃から60℃にまで加温し糖化した。冷却後、種発酵麴625gを加え、30℃で3日間発酵させ、経過については小規模試作と同様に確認した。包装後、85℃の熱水浴中に30分間入れることで殺菌し、漬物製造業者による試作漬に供した。

2.4 乳酸発酵麴の酵素活性評価

発酵麴の酵素活性は、糖化力、酸性カルボキシペプチダーゼ活性について、それぞれ対応する醸造分析キット(キッコーマンバイオケミファ)で測定した。

3 結果及び考察

3.1 乳酸菌の選抜および菌種の簡易同定

塩分8%の麴エキス中で増殖可能な耐塩性乳酸菌として1株(H1)、MRS液体培地中で発酵して生成した酸中で90日間生存した耐酸性乳酸菌として3株(H2、H3、H4)が得られた。糖の資化性から、表1のように菌種を確認した。H3とH4株については、典型的なプロファイルとの一致率が低く、この試験では同定に至らなかった。

表1 糖質化性による菌種の簡易同定

菌名	分類群	一致率
H1	<i>Pediococcus damnosus</i> 2	98.0%
H2	<i>Lactobacillus brevis</i> 3	99.8%
H3	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris</i>	53.7%
H4	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	69.6%

3.2 乳酸発酵麴の小規模試作

麴を加熱して得られた pH5.9、Brix37.6、Aw0.950の糖化麴に対して、安定的に発酵させて風味付けを行うため、乳酸菌H1株、B5株、E37株の3株を同時に植えて発酵させた。必要な菌数を確認するために、総菌数を 3.8×10^7 CFU/gから 2.8×10^8 CFU/gまで変化させて植菌し、経過を確認した。全系列のpHと 2.8×10^8 CFU/g植菌したときの菌数変化を図1に示す。乳酸菌を 7×10^7 CFU/g以上添加すると、乳酸菌を添加せずに発酵させたブランクと比較して、pHの低下が進むことを確認した。また、酵母数の増加が確認されることから、エタノールの過剰生成を防ぐためには、3日程度の発酵にとどめる必要があることも確認された。

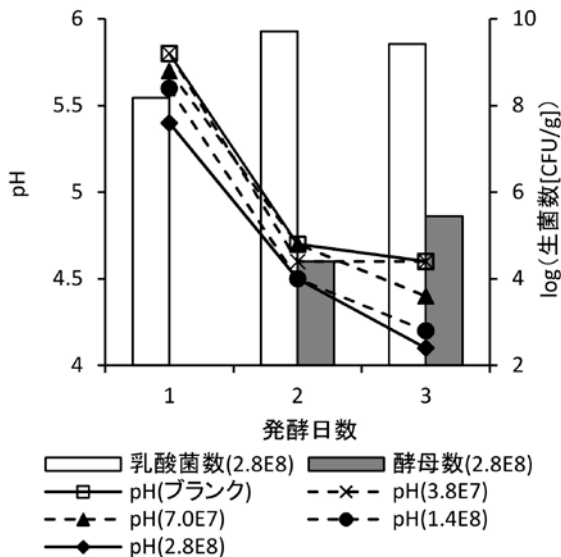


図1 小規模試作の発酵経過

3.3 乳酸発酵麴の中規模試作

小規模試作の結果を受けて、糖化した麴に対して、乳酸菌を 10^8 CFU/g以上添加することを目標

に、種発酵と本発酵をさせ、経過を確認した(図2)。種発酵では発酵を促進させるため、水分量を増やして水分活性を上げた糖化麴(pH6.2、Brix31.1、Aw0.969)に対して、 1.3×10^8 CFU/gの乳酸菌を添加した。2日間の発酵でのpHは4.0まで低下して小規模試作よりも乳酸発酵は進み、乳酸菌数は 2.8×10^9 CFU/gまで増加した。

本発酵は糖化した麴9.375kgに、種発酵させた麴625gを加えることで、 1.8×10^8 CFU/gの乳酸菌を植菌して進めた。3日間の発酵でpHは3.9まで低下し、酸味を感じる乳酸発酵麴を得ることができた。殺菌後の発酵麴は漬物業者に提供され、業者側で最終製品に合わせて適宜塩分を添加した上で、きゅうり、かぶ、大根の漬物の試作に使用され、良好な試作品を製造することができた。

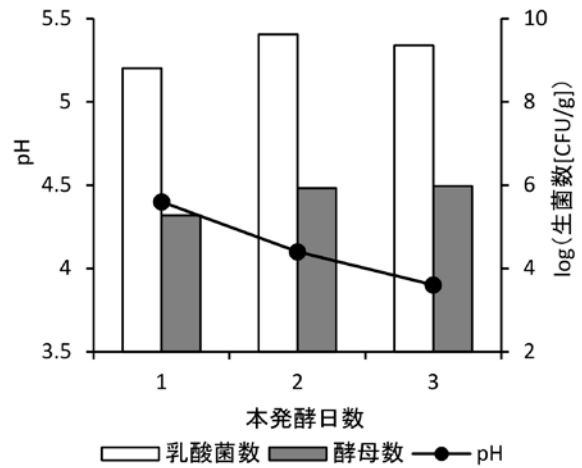


図2 中規模試作の発酵経過

3.4 乳酸発酵麴の酵素活性評価

麴由来の風味の生成には、アミラーゼによるデンプンの分解やプロテアーゼによるタンパクの分解が影響を与えていると言われていた。中規模試作の本発酵過程におけるこの活性の変化を確認した(図3)。麴の糖化力(グルコアミラーゼと α グルコシダーゼ活性を合わせたもの)は仕込み段階での0.91U/gから糖化後にかけて0.42U/gへと半減したが、その後の乳酸発酵工程では大きな活性の低下はみられなかった。酸性カルボキシペプチダーゼは仕込み時の1.15U/gから糖化後にかけて0.42U/gへと40%減少し、最終的には仕込み時の

30%程度となる0.32U/gが残存した。本研究では、試作漬は加熱殺菌したものを使用したため、これらの残存していた酵素活性は失活している。しかし、加熱以外の方法で制菌できれば、ある程度酵素活性を残した調味資材となり、麴自身の分解で生じる風味にとどまらず、漬込んだ食材の分解で生じる風味も得られる可能性があることが示唆された。

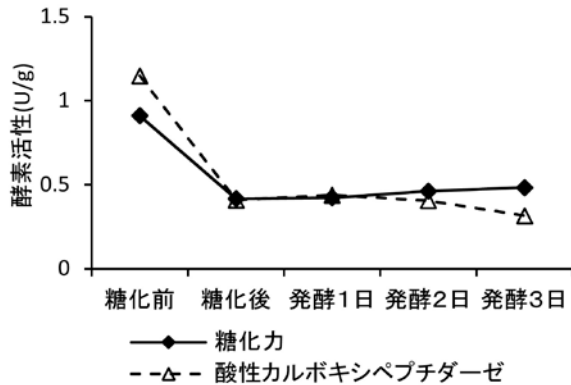


図3 中規模試作の本発酵過程での乳酸発酵麴の酵素活性変化

4 まとめ

(1) 県産の漬物から新たに耐塩性乳酸菌を1株、耐酸性乳酸菌を3株分離することができた。

(2) 糖化させた麴と乳酸菌を組み合わせることで、新たな県産調味資材を得ることができた。漬物製造業者により適宜塩分を加えることで、良好な野菜漬物の試作品を作れることが確認された。

(3) 実用化を進めるには、容易に大量製造できる方法を確立し、製造コストを下げるのが求められる。また、あらかじめ低塩濃度になるよう塩を加えたいうえで、発酵できる条件が決定できれば、より安全に発酵が進められると期待できる。

謝辞

本研究を進めるに当たり、漬物の提供や乳酸発酵麴での試作漬をしていただきました漬物製造業者の皆様に、感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 農林水産省大臣官房食料安全保障課：平成 23 年度食品産業動態調査, (2012)201
- 2) 財団法人農政調査委員会：平成 19 年度食と農への理解を基礎とする新たなライフスタイルのあり方の確立に関する調査委託事業報告書, (2008)6
- 3) 橋本俊郎：漬物用乳酸菌スターターの開発, 茨城県工業技術センター研究報告, **30**, (2002)
- 4) 木村貴一, 高橋慶太郎, 大野剛, 新野葉子：乳酸菌ラクトバシラス・サケイ株、飲料製造方法、食品製造方法、漬け床製造方法、製パン改質原料製造方法, 特許 5044769
- 5) 本庄隆成, 北村英三：微生物利用による食品の品質保持に関する研究, 埼玉県工業技術センター研究報告, **3**, (2001)212
- 6) 北村英三, 本庄隆成：乳酸発酵の制御に関する研究微生物利用による食品の品質保持に関する研究, 埼玉県工業技術センター研究報告, **2**, (2000)230