

乳酸発酵食品の美味しさの科学 (R6)

公益財団法人とかち財団 ものづくり支援部

食品技術グループ 菅沼裕乃・高谷政宏

1 研究の背景と目的

乳酸発酵食品にはチーズ、ヨーグルトといった乳製品や、味噌・醤油、漬物などがある。昨今の漬物は調味液に野菜を漬けこむだけの簡便な製法が主流になっているが、漬物の国内における歴史は1400年以上と非常に古く¹⁾、従来は野菜に付着していた乳酸菌等により自然発酵することで作られており、このような漬物はほどよい酸味と独特の風味、美味しさがあると報告されている²⁾。したがって、自然発酵によって漬物を製造すれば調味液に漬けこむことで製造された漬物と異なる美味しさを備えた製品が得られると考えられる。しかしながら、自然発酵は衛生管理が難しいため現在の衛生規範に則って製造することは非常に困難であると考えられた。

一方、当財団は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（うち経営体強化プロジェクト）」、日本中央競馬会の畜産振興事業の支援を受けて、複数の研究機関、大学、企業とともにチーズの熟成期間短縮効果を持ったチーズスターター（凍結乾燥粉末）を開発した³⁾。このチーズスターターに使用されている *Lacticaseibacillus paracasei* OUT0010 は植物原料である酒粕に由来しており、乳酸発酵漬物である長野県の郷土料理であるすんき漬けや、日本国内で最も製造されている漬物の種類であるキムチにもこの菌種の存在が報告されていた^{4,5,6)}。したがって、*Lb. paracasei* OUT0010 を漬物の製造に利用すると乳酸発酵による酸味や風味を漬物に付与することが期待された。

そこで、本報告では *Lb. paracasei* OUT0010 によって得られる茄子の浅漬けの風味の特徴、凍結乾燥粉末を使用した茄子の浅漬けの試作結果を報告する。

2 試験研究の方法

(1) 漬物製造適性

漬物の製造には多くの場合、食塩が使用されるため耐塩性のある菌株でないと漬物を発酵することが期待できない。また、奈良漬けや粕漬けといった漬物にはアルコールを含む酒粕が使用されるため、アルコール耐性も持ち合わせていることが望ましい。そこで、*Lb. paracasei* OUT0010 の耐塩性、アルコール耐性とアルコール存在下の耐塩性を調べた。

対照株は *Lb. paracasei* NBRC15889[†] を使用した。耐塩性の評価方法は次の通りである。MRS 培地に菌株を接種し、30℃で1晩、静置培養した。NaCl を加えて塩分濃度を調整した MRS 培地 10 mL に 100 μ L の培養液を添加して、30℃で7日間、静置培養した。培養液を目視と OD600 を紫外可視分光光度計（株式会社島津製作所）により測定し、増殖の有無を確認して耐塩性を評価した。アルコール耐性の評価方法は、培地組成以外は上記と同様であり、培地は各アルコール濃度 (v/v) に調整した MRS 培地を使用した。アルコール存在下の耐塩性の評価方法は、アルコール濃度 10% 下の各塩分濃度に調整した MRS 培地を使用した。

(2) 浅漬けの風味特徴の解析

Lb. paracasei OUT0010 の浅漬けの食味が *Lb. paracasei* NBRC15889T および漬物から分離された *Lactiplantibacillus plantarum* NBRC15891T と違いがあるかを検証した。MRS 培地 10 mL に 1 白金耳を接種し、30℃で 24 時間種培養し、種培養液を MRS 培地 100 mL に 1 mL 接種して、30℃で 24 時間培養した。培養液を 5,000 rpm、5 分間遠心分離して菌体を滅菌生理食塩水で洗浄した。この操作を繰り返し、茄子の重量に対して 10^7 cfu/g になるように菌液を滅菌生理食塩水で調製し、茄子 100 g に対して菌液を総量 100 mL、食塩 3g 添加して 20℃で 3 日間発酵した。なお、茄子は水洗いした後に 200 ppm 次亜塩素酸水に 10 分間沈めて殺菌し、よく水洗いしたものを使用した。

調製した浅漬けを分析評価として、乳酸菌の生菌数は BCP 培地に生育したコロニーをカウントした。pH は pH メーター (株式会社堀場製作所) を用いガラス電極により測定した。ナトリウムは原子吸光分光光度計 (株式会社島津製作所) を用い、原子吸光光度法により測定し食塩相当量に換算した。糖度は糖度計 (株式会社アタゴ) により分析した。遊離アミノ酸は PTC アミノ酸分析法により HPLC (株式会社島津製作所) で分析した。味質は味覚センサー (株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー) により分析した。官能評価は 10 段階の評点法で実施した。

(3) *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末を使用した浅漬け試作試験

Lb. paracasei OUT0010 凍結乾燥粉末を使用し浅漬けを試作する事で、浅漬けの乳酸発酵の風味を付与することができるか検証した。対照は *Lb. paracasei* OUT0010 菌体を含まない凍結乾燥粉末の賦形剤 (主原料: デキストリン) とした。茄子の浅漬けを次の通り試作した。水洗いした茄子を 200 ppm 次亜塩素酸水に 10 分間沈めて殺菌し、よく水洗いした。茄子重量 100 g に対して食塩 3 g、*Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末または賦形剤 2 g を蒸留水 100 mL に溶解して茄子を漬けた。官能評価は 2 点比較法により外観、味、香りを評価した。その他の分析は 2-(2) と同様に行なった。

すべての実験は独立して 3 回実施し、統計処理は Excel の統計ソフトを使用して Tukey-kramer 法による多重比較検定をした。官能評価においては、2 点比較法の検定表を用いた。

3 結果と考察

(1) 漬物製造適性

Lb. paracasei OUT0010 の漬物の製造適性を評価するため、耐塩性、アルコール耐性、アルコール存在下の耐塩性を調べた結果、対照株の耐塩性は 7%であったのに対し、*Lb. paracasei* OUT0010 は 8%であり、1%耐性が高かった。また、対照株のアルコール耐性は 10%であったのに対し、*Lb. paracasei* OUT0010 は 15%であり、5%耐性が高かった (表 1)。さらに、アルコール存在下の耐塩性は、対照株が 2%未満であったのに対し、*Lb. paracasei* OUT0010 は 3%であった (表省略)。一般に浅漬けの塩分濃度は 2%程度、キムチは 3%程度であるため、対照株と *Lb. paracasei* OUT0010 はどちらもこれらの漬物製造に適性があるものと考えられた。また、奈良漬けはアルコール濃度が 3.5%程度で塩分濃度が 2~4%程

度、粕漬けはアルコール濃度が 5%程度で塩分濃度が 3~5%とされている。本研究では原料のひとつである酒粕のアルコール濃度を想定して 10%条件下で試験した。奈良漬け、粕漬けよりも高濃度のアルコール存在条件下の試験であったが、*Lb. paracasei* OUT0010 は対照株よりもこれらアルコールを含有した漬物に対しても製造の適性を備えていることが分かった。また、次節の浅漬けの風味特徴の解析において使用する *Lb. plantarum* NBRC15891^T は塩分 8%で弱いながらも生育可能であると報告されていた⁷⁾。本研究においても塩分 8%で生育することを確認したため、*Lb. paracasei* OUT0010 は同程度の耐塩性であると分かった。

表 1 *Lb. paracasei* OUT0010 の耐塩性とアルコール耐性

| | NaCl 濃度 (%) | | | | | アルコール濃度 (%) | | | | |
|---|-------------|---|---|---|---|-------------|----|----|----|----|
| | 0 | 6 | 7 | 8 | 9 | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| <i>Lb. paracasei</i> OUT0010 | +++ | + | + | W | — | +++ | ++ | + | W | — |
| <i>Lb. paracasei</i> NBRC15889 ^T | +++ | + | W | — | — | +++ | ++ | W | — | — |

+++：旺盛に増殖、++：増殖、+：弱く増殖、W：わずかに増殖、—：増殖しない

(2) 浅漬けの風味特徴の解析

Lb. paracasei OUT0010 が発酵によって漬物に付与する食味の特徴を明らかにするため、茄子の浅漬けを試作し、評価した (表 2)。この結果、乳酸菌の生菌数は発酵 3 日後で *Lb. paracasei* NBRC15889^T が *Lb. plantarum* NBRC15891^T よりも低く、浸漬液の pH も高い傾向であった。このことから *Lb. paracasei* NBRC15889^T は *Lb. plantarum* NBRC15891^T よりも乳酸発酵が進んでいなかったと考えられた。一方の *Lb. paracasei* OUT0010 は *Lb. paracasei* NBRC15889^T と *Lb. plantarum* NBRC15891^T のどちらも発酵後の乳酸菌生菌数、pH に有意な差はなかった。総遊離アミノ酸濃度も有意な差はなかったが、*Lb. paracasei* OUT0010 と *Lb. plantarum* NBRC15891^T が高い傾向であった。以上のことから、*Lb. plantarum* NBRC15891^T、*Lb. paracasei* OUT0010、*Lb. paracasei* NBRC15889^T の順に乳酸発酵が旺盛であったと考えられた。また、試作した茄子の浅漬けを味覚センサーにより味質を評価した (表 3)。味覚センサーでは補間加算の値が、酸味は-13 以上、塩味は-6 以上、その他の味質項目は 0 以上の場合、ヒトの認識強度以上とされている。試作した茄子の浅漬けは酸味、渋味刺激、苦味がヒトの認識強度以下であった。また、数値の差異が 1.0 あると各味質成分濃度が 1.2 倍の差があり、ヒトが強度差を識別可能とされている。*Lb. paracasei* OUT0010 は酸味において *Lb. paracasei* NBRC15889^T に対して-0.93、*Lb. plantarum* NBRC15891^T に対して-1.47 の差があった。また、*Lb. paracasei* OUT0010 は塩味において *Lb. paracasei* NBRC15889^T に対して+1.25 の差があった。これらのことから OUT0010 は対照の 2 株よりも酸味が弱く、*Lb. paracasei* NBRC15889^T よりも塩味が強い味質の特徴があると考えられた。塩味の強さは好ましくない味質の特徴になる可能性があるため、さらに 10 段階の評点法による官能評価に

よって塩味の強さを評価した。その結果、*Lb. paracasei* OUT0010 の塩味強度 5.0 ± 0.0 に対して *Lb. paracasei* NBRC15889^T は 4.7 ± 1.5 、*Lb. plantarum* NBRC15891^T は 5.2 ± 1.0 であり、塩味の強さに違いは認められなかった。ヒトは食塩 (NaCl) の Na⁺ を塩味として検知するが、味覚センサーの塩味センサーは Cl⁻、陰イオンを検知している。また、原子吸光度法による食塩相当量にも違いがなかった (表 2) ことから、*Lb. paracasei* OUT0010 の味覚センサーによる塩味の強さは塩辛さを意味しているものではないと考えられた。一方味覚センサーによる塩味の強さはメーカーによると味が濃い、濃厚であるとも解釈できるとされている。以上のことから、*Lb. paracasei* OUT0010 を使用した茄子の浅漬は酸味が弱く、濃厚な味わいが特徴であり、対照株と差別化されているものと考えられた。

表 2 培養菌体を使用した茄子の浅漬の各種分析結果

| | 発酵前 | | 発酵後 | | | | |
|--|-----------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|---------------------|
| | 乳酸菌 生菌数 $\times 10^6$ cfu/g | 可食部 pH | 乳酸菌 生菌数 $\times 10^7$ cfu/g | 浸漬液 pH | 可食部 pH | 総遊離 アミノ酸 mg/100 g | 食塩 相当量 g/100g |
| <i>Lb. paracasei</i> OUT0010 | 4.8 ± 0.3 | 5.4 ± 0.0 | 4.3 ± 1.1 ab | 4.7 ± 0.2 | 5.4 ± 0.1 | 74.7 ± 13.4 | 1.1 ± 0.0 |
| <i>Lb. paracasei</i> NBRC15889 ^T | 5.1 ± 2.3 | 5.3 ± 0.1 | 3.3 ± 1.2 b | 4.6 ± 0.2 | 5.3 ± 0.0 | 54.1 ± 0.7 | 1.1 ± 0.1 |
| <i>Lb. plantarum</i> NBRC15891 ^T | 8.3 ± 4.5 | 5.3 ± 0.1 | 8.7 ± 2.8 a | 4.4 ± 0.3 | 5.2 ± 0.2 | 71.3 ± 14.7 | 1.0 ± 0.1 |

異なるアルファベット間は 5%水準で有意差があることを示す。

表 3 培養菌体を使用した茄子の浅漬の味覚センサーによる味質評価結果

| | 酸味 | 苦味 雑味 | 渋味 刺激 | 旨味 | 塩味 | 苦味 | 渋味 | 旨味 コク | 備考 |
|--|--------|----------|----------|------|-------|-------|------|----------|----------|
| <i>Lb. paracasei</i> OUT0010 | -22.22 | 2.44 | -0.55 | 6.29 | 3.15 | -0.69 | 0.25 | 0.66 | |
| <i>Lb. paracasei</i> NBRC15889 ^T | -21.29 | 2.09 | -0.90 | 6.06 | 1.90 | -0.69 | 0.21 | 0.62 | 補間 加算 |
| <i>Lb. plantarum</i> NBRC15891 ^T | -20.75 | 2.04 | -0.84 | 6.14 | 1.72 | -0.66 | 0.22 | 0.71 | |
| <i>Lb. paracasei</i> OUT0010 | -0.93 | 0.35 | 0.35 | 0.23 | 1.25 | 0.00 | 0.04 | 0.04 | |
| <i>Lb. paracasei</i> NBRC15889 ^T | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 補間 差分 |
| <i>Lb. plantarum</i> NBRC15891 ^T | 0.54 | -0.05 | 0.06 | 0.08 | -0.18 | 0.03 | 0.01 | 0.09 | |

(3) *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末を使用した浅漬け試作試験

チーズ用に製造された *Lb. paracasei* OUT0010 の凍結乾燥粉末スターターをそのまま使用して簡便に乳酸発酵の風味を浅漬けに付与することが可能か検討した。対照は凍結乾燥粉末の賦形剤とし、乳酸菌は接種しなかったが、原料に由来する乳酸菌がわずかに混入し、発酵3日間生存していることが確認された。一方で *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末を使用すると発酵中、高い水準で生菌数を維持し (図 1)、発酵3日後には浸漬液と可食部の pH が減少していたが、総遊離アミノ酸濃度に違いはなかった (表 4)。この原因として凍結乾燥から復帰した *Lb. paracasei* OUT0010 は乳酸発酵を開始してもすぐにはタンパク質の分解酵素を発現しないものと考えられた。また、官能評価により外観、香り、味の好ましいものを評価した。外観、香り、味すべてにおいて *Lb. paracasei* OUT0010 を使用した浅漬けが好ましいという結果が得られた (表 5)。 *Lb. paracasei* OUT0010 を使用すると桃色がかかった色合いになったため外観が好まれた他に (図 2)、対照は茄子自体の風味が強い、塩辛いというコメントがあったのに対し、 *Lb. paracasei* OUT0010 はほどよい酸味、さわやかな香り、塩味がマイルドといったコメントがあり、これらが好まれたものと考えられた。以上から *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末は簡便に好ましい食味の茄子の浅漬けの製造が可能であると考えられた。

表 4 *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末を使用した茄子の浅漬けの各種分析結果

| | 発酵前 | | 発酵3日後 | | | | |
|-----|----------------------------------|-----------|----------------------------------|----------------|----------------|------------------------|---------------------|
| | 乳酸菌生菌数 cfu/g | 可食部 pH | 乳酸菌生菌数 cfu/g | 浸漬液 pH | 可食部 pH | 総遊離 アミノ酸 mg/100g | 食塩 相当量 g/100g |
| 対照区 | $(3.0 \pm 1.5) \times 10^2$ b | 5.6 ± 0.0 | $(2.6 \pm 2.3) \times 10^3$ b | 4.8 ± 0.1 a | 5.2 ± 0.2 a | 61.1 ± 26.7 | 1.4 ± 0.2 |
| 試験区 | $(2.0 \pm 0.9) \times 10^7$ a | 5.6 ± 0.0 | $(9.7 \pm 5.1) \times 10^7$ a | 4.3 ± 0.1 b | 4.8 ± 0.1 b | 59.6 ± 19.8 | 1.4 ± 0.1 |

異なるアルファベット間は 5%水準で有意差があることを示す。

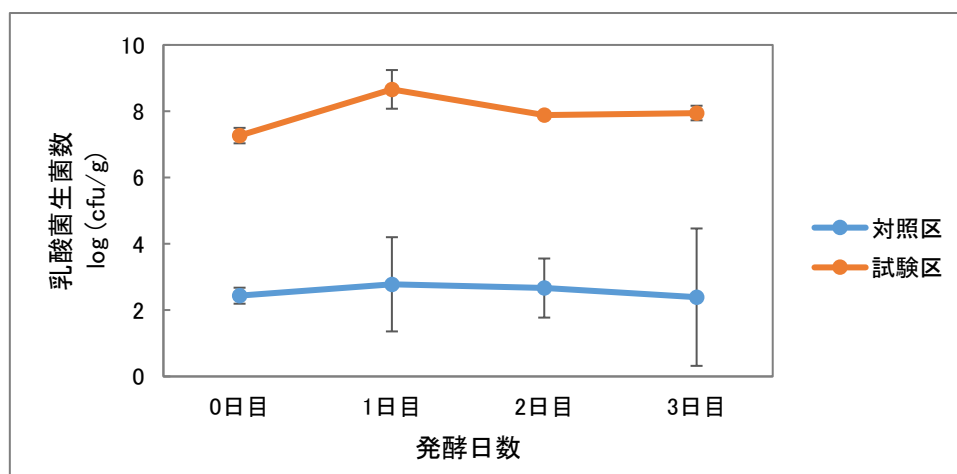


図 1 発酵中の乳酸菌数の推移(乳酸菌数は log (cfu/g) で示す)

表 5 *Lb. paracasei* OUT0010 凍結乾燥粉末を使用した茄子の浅漬けの官能評価結果

| | 好ましいと回答したパネル数 | |
|----|---------------|-------|
| | 対照区 | 試験区 |
| 外観 | 0 | 15*** |
| 香り | 2 | 13** |
| 味 | 2 | 13** |

*** : $P < 0.001$ 、 ** : $P < 0.01$



図 2 試作した茄子の浅漬けの外観（左：対照区、右：試験区）

4 まとめ

Lb. paracasei OUT0010 は酒粕から分離された乳酸菌であり、現在チーズ製造用スターター（凍結乾燥粉末）として商業利用されている菌株である。本菌株はゴーダチーズ製造に使用すると総遊離アミノ酸、遊離グルタミン酸濃度を増加することによってうま味を増強して熟成期間を短縮することが可能だと分かっている³⁾。

本研究では *Lb. paracasei* OUT0010 の用途を展開するため茄子の浅漬けに使用して添加効果を検証した。味覚センサー分析により、*Lb. paracasei* OUT0010 は同種の *Lb. paracasei* NBRC15889^T と漬物から分離された *Lb. plantarum* NBRC15891^T とは異なる食味を付与したことが示唆され、凍結乾燥粉末を使用すると簡便に風味豊かな漬物が製造できることが確認された。現在一般向けに販売されている漬物製造用乳酸菌商品は種類が少なく、確認できたものは様々な調味料等と乳酸菌が混合されたものであった。*Lb. paracasei* OUT0010 はチーズ製造用スターターとしてだけでなく、漬物製造用としても活用することで漬物にも多様な美味しさを生み出すことが期待される。

5 参考文献

- 1) 宮尾茂雄 (2017) , 醸協 112 (6) , 386-396
- 2) 平井達雄 (1981) , 調理科学 14 (2) , 103-105
- 3) 小林美穂 (2023) , Milk Science 72 (2) , 65-70
- 4) 大澤克己ら (2015) , 日本食品科学工学会誌 62 (12) , 585-590
- 5) 西岡輝美ら (2011) , 近畿中国四国農研 18, 85-88
- 6) 一般社団法人食品需給研究センター 令和 6 年度食品産業動態調査 (年報)
- 7) 玉川英幸、伊藤良仁 (2017) , 岩手県工業技術センター研究報告 19, 62-68