

《温故知新プロジェクト》

伝統漬物における微生物学的解析及び香気成分の研究

宮尾 茂雄* 佐藤 吉朗*

Studies on Microorganisms and Flavor in Traditional Japanese Fermented Vegetables

Shigeo MIYAO, and Yoshio SATO

1. はじめに

我が国には、浅漬、福神漬、たくあん漬、高菜漬、しば漬など、数多くの漬物がある。これらを保存・流通面から大きく3種類に分類すると、一つは、原料野菜が有する風味を生かした漬物として浅漬類がある。しかし、食塩濃度が2%前後と低いことから微生物が容易に増殖しやすく、保存性の乏しいものとなっている。もう一つは、福神漬に代表される調味漬で、塩蔵野菜を脱塩し、調味液で漬けた後、包装、加熱殺菌されるものやらっきょう漬のように甘酢で調味することにより長期保存を可能にしているものがある。もう一つは、すぐき漬のように乳酸発酵によって風味が形成されるとともに pH の低下によって保存性が高められている発酵漬物がある。

特に、発酵漬物は世界各地にあり、それぞれの地域の特性に合わせた伝統的な製造法により作られている。わが国では、糠みそ漬、高菜漬、すぐき漬、しば漬、飛騨赤カブ漬、すんき漬、菜の花漬など、国外では、キムチ、ザワークラウト、発酵ピクルス、泡菜（パオツァイ）など、多種類の伝統的な発酵漬物が知られている。これらの発酵漬物に關与する微生物に關しては多くの報告^{1~7)}があるが、発酵に伴う香気成分の生成との關連から検討を加えた報告は、糠漬に關するもの^{8~10)}以外はあまり見当たらない。

そこで、研究1年目として対象とする発酵漬物の選択と香気成分の分析手法として従来法と近年開発された香気成分を捕捉する「におい吸着パッド」を用いた香気成分の分析手法の有効性について比較検討した。

2. 実験方法

1) 実験材料

我が国を代表する発酵漬物として、佐賀県有田の高菜漬（平成25年5月漬込み相知高菜、平成25年5月漬込み三池高菜）、岐阜県高山の飛騨赤カブ漬（平成25年漬込み）、京都市上賀茂のすぐき漬（平成25年11月漬込み）、滋賀県大津の菜の花漬（平成25年4月漬込み、古漬け）

を対象に微生物の解析、香気成分の分析を行った。

2) 微生物菌数、pH、食塩濃度の測定

それぞれの発酵漬物 25 g に滅菌した生理的食塩緩衝液を加えて 250 mL とし、ストマッカー処理により検液を調製した。常法により 10 倍段階希釈を行った後、各選択培地を用い、主に混釈培養法により菌数測定を行った。各微生物の選択培養は以下のとおり行った。生菌数は、標準寒天培地を用い、30°C、48 時間培養後、生成したコロニーを計数した。乳酸菌数は、MRS 培地にアジ化ナトリウム、シクロヘキシミドを添加したものを用い、30°C、48 時間培養後、生成したコロニーを計数した。グラム陰性菌数は、CVT 培地を用い、30°C、48 時間培養後、TTC を赤変したコロニーを計数した。真菌は、PDA 培地にクロラムフェニコールを添加した培地を用い、28°C、72 時間培養後に生成したコロニーを計数した。また、pH は電極法、食塩濃度はモール法により測定した。

3) 香気成分の抽出法

分析には GC/MS 法（ガスクロマトグラフィー／質量分析法）を採用した。特に本機器にはにおい嗅ぎ装置が装備されており、揮発成分について成分分析を実施しつつ、分離された成分を直接ヒトの鼻でにおいを嗅ぐことができる装置である。これまでの漬物のおい成分分析は揮発成分について全て観測されるピークについて成分を同定し、漬物のおい成分としてきた。本機器は、予め自分で漬物のおいを嗅いで、においを脳に記憶させ、におい嗅ぎ装置で実際に漬物のおい成分分析時ににおい嗅ぎ装置にて、におい嗅ぎを行い、どの成分がこの漬物の主たるにおい成分であるかを判別する。

GC/MS 装置のイメージ図を図1に示す。GC 注入口より導入された試料はカラムを通過して成分ごとに分離される。分離された成分はクロスピースで2分割され、一部は MS（検出器）、一部はにおい嗅ぎ部に導かれる。

漬物を細切し、密閉容器に封入して、香気成分の抽出を行った。この際2種類の方法を検討した。図2に示すよう

* 東京家政大学 (Tokyo Kasei University)

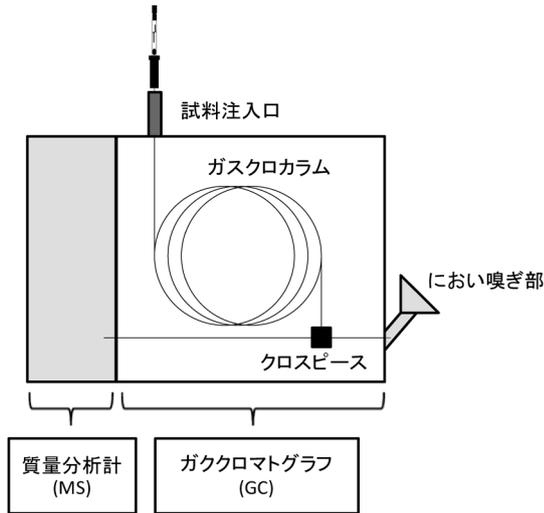


図1 GC/MS装置のイメージ図

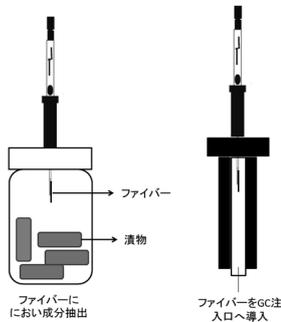


図2 A法

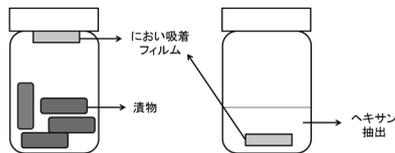


図3 B法

に SPME (固相マイクロ抽出) 法 (A 法) 及び図3に示すようなにおい吸着フィルムを用いた方法 (B 法) を比較検討した。

A 法：図2のように密閉容器中に漬物を封入し、その上層 (気相) に SPME ファイバーを挿入し、ファイバーの先端に塗布固定された樹脂ににおい成分を (40°C、30 分間) 吸着させ、そのファイバーを GC に導入した。本方法は、簡便迅速に抽出をすることができるが、SPME ファイバーは高価であり、分析コストが掛かるのが欠点である。

B 法：図3のように密封容器のふた裏に付けたにおい吸着フィルム (2.5 cm×2.5 cm) ににおい成分を (40°C、30 分間) 吸着させ、フィルムを取り出し、密封容器中で、*n*-ヘキサン 10 mL を用いて 30 分間フィルムに吸着したにおい成分を溶媒中に溶出させた。その後、*n*-ヘキサン 1 μL

を GC/MS に注入した。本方法は、簡便で低コストで分析を実施できるという特徴を有している。

A 法、B 法の抽出効率を GC/MS 装置により検討した。即ち、2法によるにおい成分抽出量をクロマトグラムのピーク高さにより比較した。

2. 結果および考察

1) 微生物、pH、食塩濃度

発酵漬物のうち、高菜漬の各菌数、pH、食塩濃度は表1で示したとおりである。三池高菜および相知高菜においては、生菌数はそれぞれ $3.8 \times 10^4/g$ 、 $1.7 \times 10^6/g$ 、であったが、コロニーの性状から多くは耐熱性芽胞菌であった。また、高菜漬の pH はそれぞれ、4.29、4.10 で乳酸発酵によるものと考えられるが、乳酸菌数をみると $4.3 \times 10^3/g$ 、 $4.0 \times 10^2/g$ であり低い値であった。これは、いずれの高菜漬も平成 25 年 5 月に漬け込まれたもので、菌数測定を行った時期が 10 月であることから、長期にわたる乳酸発酵により蓄積された乳酸により乳酸菌自体の生育が抑制されただけでなく、一部のものが死滅減少したことが原因と考えられた。なお、発酵漬物において、発酵初期にみられるグラム陰性菌や大腸菌群は乳酸発酵によって生成される乳酸により死滅減少したため、いずれの漬物においても検出されなかった。また、飛騨赤カブ漬およびすぐき漬の各菌数、pH、食塩濃度は表2で示したとおりである。生菌数はそれぞれ $4.6 \times 10^6/g$ 、 $4.2 \times 10^8/g$ 、pH は 4.27、4.00 であった。乳酸菌数をみるとそれぞれ $2.7 \times 10^6/g$ 、 $3.6 \times 10^6/g$ に達しており、高菜漬の場合と異なり、多くの乳酸菌が存在していた。これは、高菜漬の場合は長期にわたる乳酸発酵により乳酸菌自体が死滅減少した一方で、飛騨赤カブ漬やすぐき漬は秋季に漬込みが行われたものであることから、比較的多くの乳酸菌が生残していたものと考えられた。なお、飛騨赤カブ漬やすぐき漬のグラム陰性菌や大腸菌群は高菜漬の場合と同様、乳酸発酵によって生成される乳酸により死滅減少したため、いずれの漬物においても検出されなかった。

2) 香気成分の抽出効率

A 法、B 法の抽出効率を GC/MS 装置により検討した。即ち、2法によるにおい成分抽出量をクロマトグラムのピーク高さにより比較した。その結果、図4、図5のように A 法の抽出効率 (分析感度) が良いことが明らかとなった。B 法は 10 mL の内の 1 μL を注入していることから、その分を考慮して 10,000 倍したとしても、A 法の感度が優れていた。従って、今後各種の漬物の分析を実施するには抽出法として A 法を採用することとした。

表1 高菜漬の菌数、pH、食塩濃度

項目	三池高菜漬	相知高菜漬
生菌数	$3.8 \times 10^4/g$	$1.7 \times 10^6/g$
乳酸菌数	$4.3 \times 10^3/g$	$4.0 \times 10^2/g$
真菌数	$7.9 \times 10^3/g$	<300
グラム陰性菌数	<300	<300
大腸菌群数	<300	<300
pH	4.29	4.10
食塩濃度	12.0%	11.7%

表2 飛騨赤カブ漬、すぐき漬の菌数、pH、食塩濃度

項目	飛騨赤カブ漬	すぐき漬
生菌数	$4.6 \times 10^6/g$	$4.2 \times 10^8/g$
乳酸菌数	$2.7 \times 10^6/g$	$3.6 \times 10^6/g$
真菌数	<300	$5.2 \times 10^4/g$
グラム陰性菌数	<300	<300
大腸菌群数	<300	<300
pH	4.27	4.00
食塩濃度	3.5%	5.1%

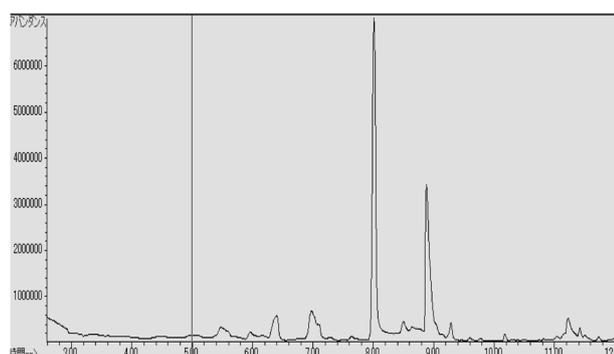


図4 A法による分析結果

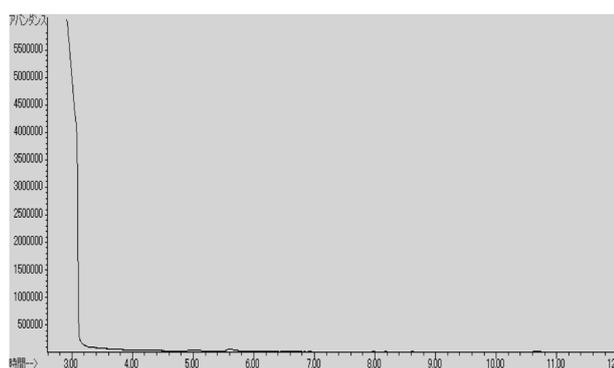


図5 B法による分析結果

3. 要 約

研究1年目として発酵漬物における微生物と香り成分の関連性について研究を進めるうえで有用となる発酵漬物の選択と香り成分の分析手法として従来法と近年開発された香り成分を捕捉する「におい吸着パッド」を用いた香り成分の分析手法の有効性について比較検討した。

その結果、高菜漬は長期にわたり乳酸発酵が行われるため、pH4程度まで低下しているにもかかわらず乳酸菌数は少なかった。一方、飛騨赤カブ漬やすぐき漬は短期の乳酸発酵で商品化されることから乳酸菌が多く生残していた。

また、香り成分の分析方法について、従来法と「におい吸着パッド」を用いた香り成分の分析手法の有効性について比較検討したところ、従来法に比較し、「におい吸着パッド」を用いた分析手法が優れていた。

そこで、次年度は高菜漬を対象に、原料高菜の漬込みから長期間にわたる乳酸発酵経過にともなう関連微生物および香り成分の変化について調べることにした。

なお、本研究は東和食品研究振興助成金により行われたものである。ここに感謝の意を表する。

文 献

- 1) 宮尾茂雄 (2002). *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, **13**(1), 2
- 2) 宮尾茂雄 (2003). 日本海水学会誌, **57**, 11
- 3) 奥村美代子, 森下恭子, 森下日出旗 (1995). 生活衛生, **39**, 257
- 4) 品川弘子, 西山隆造, 岡田早苗 (1996). 日食工誌, **43**, 582
- 5) 中山大樹 (1964). *Japan Food Science*, **3**(6), 53
- 6) 板橋雅子, 高村節子 (1985). 日食工誌, **32**(12), 859
- 7) 円谷悦造, 渡辺 篤, 正井博之 (1982). 日食工誌, **29**, 202
- 8) 今井正武, 平野 進, 饗場美恵子 (1983). 農化, **57**, 1105
- 9) 今井正武, 平野 進, 饗場美恵子 (1983). 農化, **57**, 1113
- 10) 今井正武, 後藤昭二 (1984). 農化, **58**, 545