

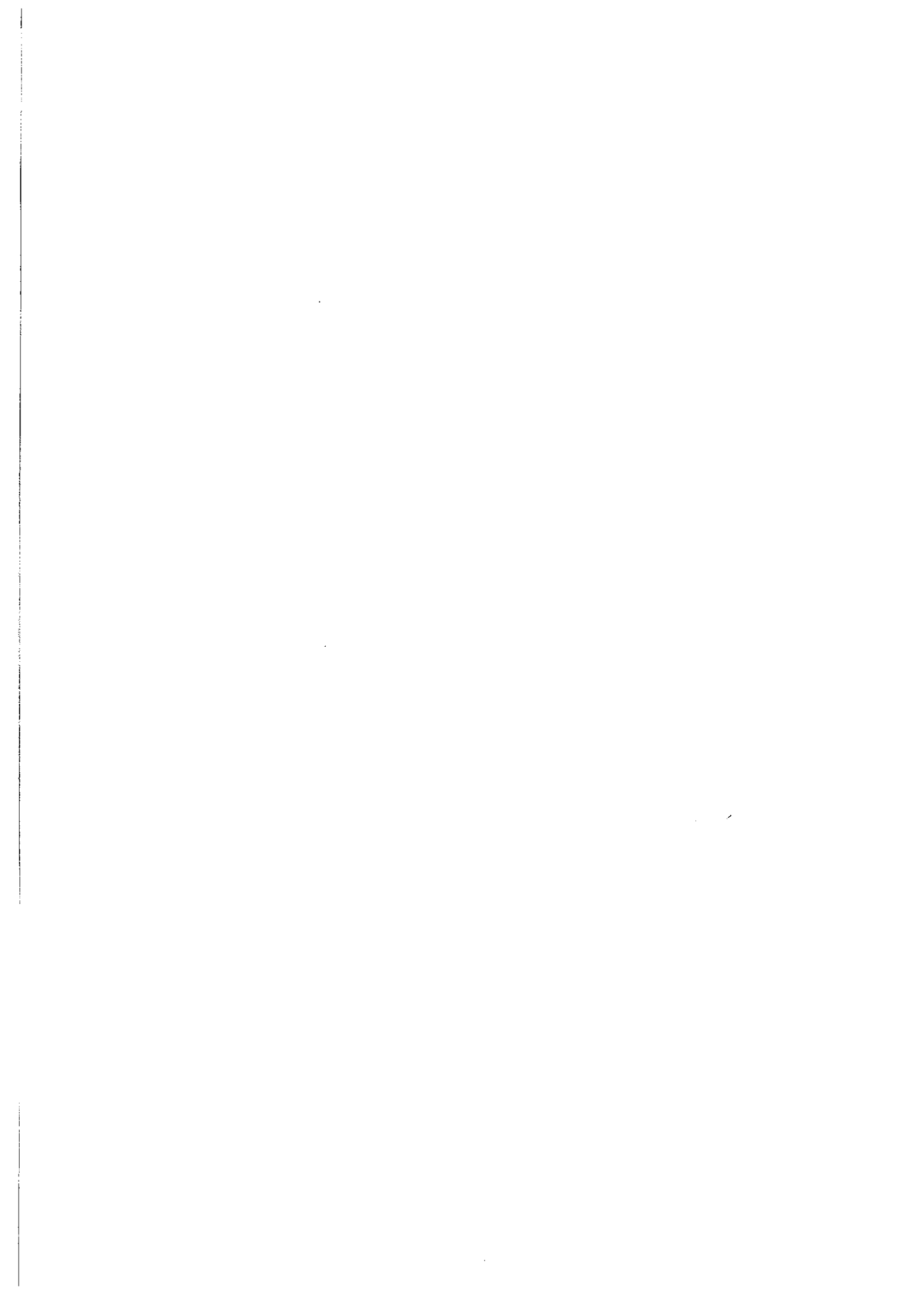
富山県農林水産総合技術センター
食品研究所研究報告
第 2 号

Bulletin of the Food Research Institute,
Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center

富山県農林水産総合技術センター
食品研究所

Food Research Institute,
Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center

富山食研研報
Bull. TOYAMA
Food Res. Inst.
No.2 2014



目 次

報 文

- 富山赤71号の成分等特性と機能性を保持した γ -アミノ酪酸 (GABA) 富化米の品質について
鹿島 真樹、加藤 一郎 1
- 食用高トコトリエノール米 (食用高 T3米) の成分等特性と γ -アミノ酪酸 (GABA) 富化米の品質と
その保存性について
鹿島 真樹、加藤 一郎 9
- 非加熱豆乳の凍結分離における大豆脂質の影響
中川 義久、守田 和弘17
- 脱脂方法が大豆タンパク質の Ca 凝固に及ぼす影響
中川 義久、守田 和弘23
- 県内産農産物の植物ステロールの含量と組成について
鹿島 真樹、中川 義久27
- 三社柿の熟期の違いが生柿及び干柿の品質・機能性成分等に及ぼす影響について
鹿島 真樹、中川 義久35
- 循環型機械乾燥機による米菓餅生地乾燥中の音の変化
加藤 一郎43
- 海洋深層水を利用した野菜加工品の品質劣化防止技術の開発
加藤 肇一、中川 秀幸47

学位論文

- 富山県地域資源からの γ -アミノ酪酸 (GABA) 生成乳酸菌の分離とその食品への応用に関する研究
寺島 晃也51

富山赤71号の成分等特性と機能性を保持した γ -アミノ酪酸(GABA)富化米の品質について

鹿島 真樹、加藤 一郎

(2013年1月21日受理)

キーワード：富山赤71号、成分等特性、GABA 富化米、機能性

富山県農林水産総合技術センター農業研究所では、抗酸化性等の機能性を有し、良食味の赤米の開発に取り組んだ。その結果、「コシヒカリ」と「Kasalath」から「富山赤71号」を育成した。この富山赤71号について、その成分等の特徴と近年各種機能性^{1)~4)}が注目されている γ -アミノ酪酸(GABA)を多く含む GABA 富化米の開発のための基礎的な知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 富山赤71号の玄米及び搗精米の成分等について

1) 試料

玄米は、平成20年産から平成22年産の3ヵ年農業研究所で収穫された富山赤71号を用いた。対照として平成22年産の市販のコシヒカリの玄米を用いた。

搗精米は、サタケ製マジックミル(SKM-5B)で平成21年産の富山赤71号玄米を約99%、約97%に搗精し調製した(それぞれ搗精歩留約99%米、搗精歩留約97%米とする)。

2) 成分分析

成分分析は、水分、たんぱく質、脂質、食物繊維、灰分、K、P、Mg、Fe、ビタミンB₁、ビタミンEを五訂の食品成分表分析マニュアル⁵⁾に従い分析した。プロアントシアニジンは沖らの方法⁶⁾に準じて測定した。

3) 遊離アミノ酸

遊離アミノ酸は75%エタノールで加熱還流抽出した後、減圧乾固し0.02N-塩酸溶液に溶解し、日本電子製全自動アミノ酸分析計JLC-500/V2で分析した。

4) 表面色

島津製作所製分光色彩計(CLR-7100F)を用いて、粉体用ガラスセルで米粒表面色を測定した。

5) DPPH ラジカル消去活性

DPPH ラジカル消去活性は、須田の方法⁷⁾に準じて測定した。

2. γ -アミノ酪酸(GABA)富化米の試作と品質評価

1) 試料

平成21年産農業研究所で収穫された富山赤71号の玄米と搗精歩留約99%米、搗精歩留約97%米を試料として用いた。

2) GABA 富化米の製造方法

富山赤71号の玄米、搗精歩留約99%米、搗精歩留約97%米を用いた GABA 富化米の製造フローを図1に示した。洗米した原

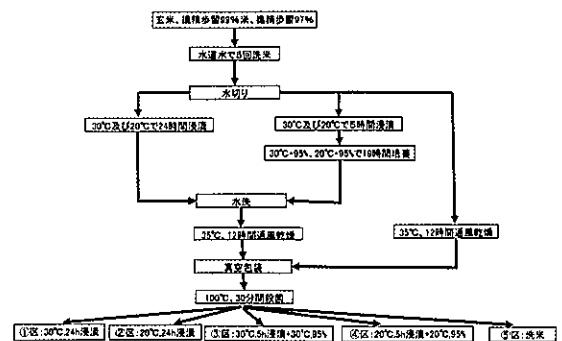


図1 GABA 富化米の製造フロー

料米100g に対して蒸留水100g を加え、以下の5通りの方法でGABA 富化米を調製した。

- ①区：水温30℃で24時間浸漬（恒温水槽を30℃に設定）した。
- ②区：水温20℃で24時間浸漬（恒温水槽を20℃に設定）した。
- ③区：水温30℃・5時間浸漬後（恒温水槽を30℃に設定）ザルで水切りを行い、30℃ 95%の気相条件で19時間恒温恒湿機（タバイエスベック製 PL-2 S）を用いて培養した。
- ④区：水温20℃・5時間浸漬後（恒温水槽を20℃に設定）ザルで水切りを行い、20℃ 95%の気相条件で19時間恒温恒湿機（タバイエスベック製 PL-2 S）を用いて培養した。
- ⑤区：洗米のみ行った。

いずれの区とも35℃、12時間通風乾燥機（サンヨー製 MOV-212P）で乾燥し、この後真空包装し、100℃、30分間で加熱殺菌した。

3) 測定項目

遊離アミノ酸、プロアントシアニジン、DPPH ラジカル消去活性、米粒表面色、吸水率を測定した。吸水率は、国税庁所定分析法注解⁹⁾ に準じて水温20℃で測定した。

3. 試作したGABA 富化米と市販赤米発芽玄米品との成分等比較

1) 試料

平成21年産農業研究所で収穫された富山赤71号の玄米、搗精歩留約99%米、搗精歩留約97%米から試作したGABA 富化米と市販の赤米発芽玄米2製品（A社、B社）を用いた。

2) 測定項目

水分、たんぱく質、脂質、食物繊維、灰分、ビタミンB₁、プロアントシアニジン、遊離アミノ酸、プロアントシアニジン、DPPH ラジカル消去活性を測定した。

表1 富山赤71号及びコシヒカリの成分分析結果

品種/産年	富山赤71号 玄米			コシヒカリ 玄米	玄米 文献値 ¹⁾
	H20	H21	H22	H22	
エネルギー(kcal/100g)	347	351	347	343	350
水分(g/100g)	13.7	12.9	13.4	15.0	15.5
たんぱく質(g/100g) ^{*)}	6.2	6.5	6.2	6.3	6.8
脂質(g/100g)	2.8	2.9	2.8	2.8	2.7
糖質(g/100g)	72.1	72.7	72.1	71.5	70.8
食物繊維(g/100g)	4.1	3.8	4.3	3.3	3.0
灰分(g/100g)	1.1	1.2	1.2	1.1	1.2
K(mg/100g)	180	150	190	200	230
P(mg/100g)	260	290	270	250	290
Mg(mg/100g)	110	150	120	110	110
Fe(mg/100g)	1.0	3.4	1.4	0.8	2.1
ビタミンB ₁ (mg/100g)	0.48	0.38	0.41	0.41	0.41
α-トコフェロール(mg/100g)	1.8	1.1	1.7	1.6	1.2
β-トコフェロール(mg/100g)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
γ-トコフェロール(mg/100g)	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1
δ-トコフェロール(mg/100g)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
プロアントシアニジン(mg/100g) ^{**)}	371	389	320		0
DPPHラジカル消去活性 ^{**)}	23.0	23.5	21.7		1.4
米粒表面色L*	36.4	34.9	32.8		56.5
米粒表面色a*	10.5	10.8	12.0		2.9
米粒表面色b*	18.7	17.6	18.6		22.2

*1:たんぱく質換算係数 5.95

*2:カテキンとして換算

*3: μ molTrolox/gとして表示

1) 文部科学省科学技術・学術審査会資源調査分科会(2010).日本食品標準成分表2010

実験結果および考察

1. 富山赤71号の玄米及び搗精米の成分等について

1) 富山赤71号玄米の成分等の特徴について

H20年産からH22年産までの3カ年の富山赤71号玄米、対照のH22年産コシヒカリの結果を表1に示した。富山赤71号の成分等については、食物繊維(3.8g~4.3g/100g)、鉄(1.0mg~3.4mg/100g)、ビタミンB₁(0.38mg~0.48mg/100g)、α-トコフェロール(1.1mg~1.7mg/100g)、プロアントシアニジン(320mg~389mg/100g)、L*値(32.8~38.4)、a*値(10.5~12.0)において年次による変動がやや見られた。その他の成分等については、年次による変動が明確ではなかった。山口らの赤米「紅衣」の報告⁹⁾の成分分析の結果と比べると、α-トコフェロール以外は大差なく、成分的には富山赤71号は紅衣に近い品種と考えられた。

また富山赤71号と対照のコシヒカリを比較すると、食物繊維、プロアントシアニジン、DPPH ラジカル消去活性については、

富山赤71号はコシヒカリより高かったが、その他の成分に顕著な違いはなかった。このことは、山口らの報告⁹⁾で紅衣が「あきたこまち」より食物繊維、タンニン、カテキン等の成分含量が高いという結果とはほぼ一致しており、コシヒカリ等白米からみた赤米の一般的特徴と思われる。

2) 搗精による富山赤71号の変化について

富山赤71号の玄米、搗精歩留99%米、搗精歩留97%米の成分分析の結果を表2に示した。搗精が進むことによって、玄米に比べてたんぱく質、脂質、食物繊維、灰分、カリウム、リン、マグネシウム、鉄、ビタミンB₁、 α -トコフェロール、プロアントシアニジン、DPPH ラジカル消去活性のいずれも低下した。赤米の主要成分であるプロアントシアニジンは玄米の含量を100%とすると、搗精歩留99%米で73%、搗精歩留97%米で62%に減少していた。DPPH ラジカル消去活性も玄米の活性を100%とすると、搗精歩留99%米で70%、搗精歩留97%米で58%とプロアントシアニジン含量と同様に搗精とともに減少していた。これは、

表2 富山赤71号の搗精歩留による成分分析結果

品種/搗精歩留	富山赤71号		
	玄米	搗精歩留99%米	搗精歩留97%米
エネルギー(kcal/100g)	351	351	352
水分(g/100g)	12.9	13.0	13.0
たんぱく質(g/100g) ¹⁾	6.5	6.4	6.3
脂質(g/100g)	2.9	2.7	2.7
糖質(g/100g)	72.7	73.6	74.1
食物繊維(g/100g)	3.8	3.2	2.8
灰分(g/100g)	1.2	1.1	1.1
K(mg/100g)	150	160	140
P(mg/100g)	292	274	277
Mg(mg/100g)	150	150	110
Fe(mg/100g)	3.4	3.2	2.1
ビタミンB ₁ (mg/100g)	0.38	0.37	0.36
α -トコフェロール(mg/100g)	1.1	1.1	1.0
β -トコフェロール(mg/100g)	0.1	0.1	0.1
γ -トコフェロール(mg/100g)	0.2	0.2	0.2
δ -トコフェロール(mg/100g)	0.0	0.0	0.0
プロアントシアニジン(mg/100g) ²⁾	389	282	241
DPPHラジカル消去活性 ³⁾	23.5	16.4	13.7
米粒表面色L*	34.9	33.0	36.4
米粒表面色a*	10.8	11.2	11.2
米粒表面色b*	17.6	17.7	18.4

*1: たんぱく質換算係数 5.95

*2: カテキンとして換算

*3: μ mol Trolox/gとして表示

搗精により赤米のプロアントシアニジン含量が減少し、DPPH ラジカル消去活性が低下、つまり抗酸化能が低下すると考えられた。このことは、伊藤らの報告¹⁰⁾で赤米のプロアントシアニジン含量と抗酸化能との相関が高いことと一致していた。

2. GABA 富化米の試作と品質評価

1) 玄米による GABA 富化試験

富山赤71号の玄米で GABA 富化米を試作し、GABA 含量と総遊離アミノ酸含量の結果を図2に示した。なお試料に用いた富山赤71号の玄米の GABA 含量は、1.4mg/100gであった。GABA 含量が多かったのは①、②、⑤区の11mg/100g程度であり、①区と⑤区に対して、④区は約6mg/100gと有意に低かった。玄米を GABA 生成のために浸漬する場合は30℃近傍が適温で浸漬期間は1~2日とされ¹¹⁾、①区と②区はこの条件に近いものである。また⑤区の結果のとおり、水に浸漬しなくても洗米処理と乾燥工程のみで GABA を富化することが可能であった。これは、玄米を微量加水しその後12時間放置すると GABA 含量が増加するという報告¹³⁾と類似している。この要因としては、食物繊維含量が多く、胚芽層に水分をより保持する可能性が高いことから、GABA を生成する反応が進んだと考えられた。総遊離アミノ酸含量については、総遊離アミノ酸含量が高くて GABA 含

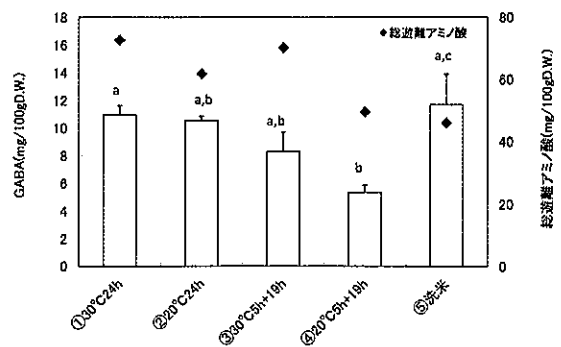


図2 玄米の GABA 富化試験での GABA 含量と総遊離アミノ酸含量

* GABA 含量に対して異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

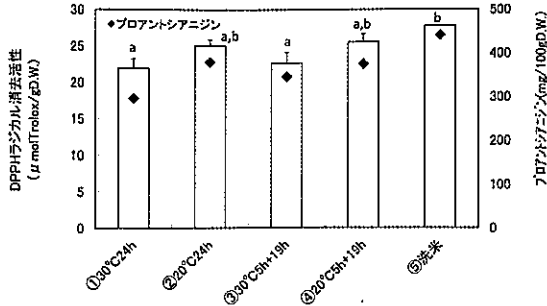


図3 玄米のGABA 富化試験でのDPPHラジカル消去活性とプロアントシアニジン含量
* DPPHラジカル消去活性に対して異符号間で有意差あり(p<0.05) (n=3)

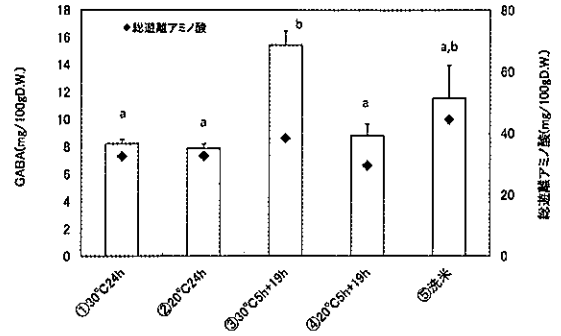


図5 搗精歩留99%米のGABA 富化試験でのGABA含量と総遊離アミノ酸含量
* 異符号間で有意差あり(p<0.05) (n=3)

量が高いものも低いものもあり、両者には明確な関係がなかった。

次にDPPHラジカル消去活性とプロアントシアニジン含量の結果を図3に示した。総じてプロアントシアニジン含量が高いとDPPHラジカル消去活性が高かった。DPPHラジカル消去活性が高く、プロアントシアニジン含量が多いのは、⑤区、②区と④区であった。DPPHラジカル消去活性は、⑤区に対して、①区と③区の2区は有意に低かった。⑤区のプロアントシアニジン含量が高く、DPPHラジカル消去活性が高いのは、浸漬処理が一切ないことにより成分損失が無いためと考えられた。

吸水速度は特に玄米を炊飯し易くする一つの要因であるが、⑤区と②区のGABA富化米と原料米玄米の20℃での吸水率を調べた結果を、図4に示した。原料米に対し、

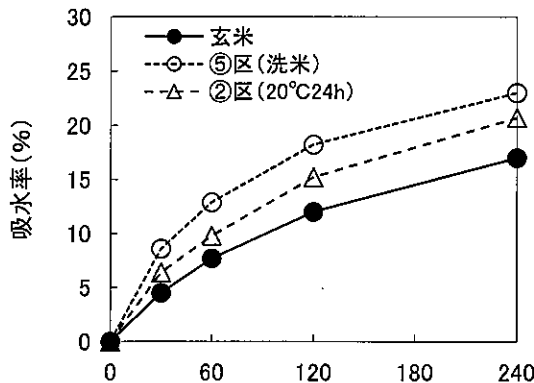


図4 原料米(玄米)とGABA富化米の吸水率

⑤区と②区のGABA富化米はいずれも吸水量が多く、吸水速度も速かった。このことは、GABA富化米製造時の吸水や乾燥による組織の脆弱化によるものと考えられた。この結果から玄米に比べGABA富化米は、短い水浸漬時間で炊飯が可能と考えられた。

2) 搗精歩留99%米によるGABA富化米試験

富山赤71号の搗精歩留99%米でGABA富化米を試作し、GABA含量と総遊離アミノ酸含量との関係を図5に示した。なお、試料に用いた富山赤71号の搗精歩留99%米のGABA含量は、1.3mg/100gであった。GABA含量が多かったのは、③区の約16mg/100g、次に⑤区の約12mg/100gであった。これ以外の区のGABA含量は約8mg/100gであった。GABA含量は、③区に対して①区、②区及び④区が有意に低かった。この結果は、③区の条件が胚芽米を洗米した後雰囲気温度20℃及び30℃で放置するとGABAが多く生成されるという報告¹⁴⁾の条件と類似しているためと考えられた。総遊離アミノ酸含量については、GABA含量が高くても総遊離アミノ酸含量にはあまり変動がなく、このため両者には明確な関係が見られなかった。

また、DPPHラジカル消去活性とプロアントシアニジンとの関係を図6に示したが、玄米の場合と同様にDPPHラジカル消去活性とプロアントシアニジンは相関してお

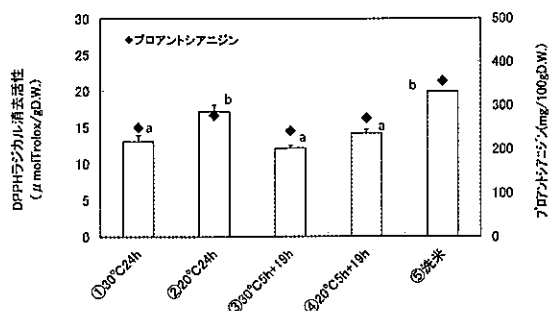


図 6 搗精歩留99%米の GABA 富化試験での DPPH ラジカル消去活性とプロアントシアニジン含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

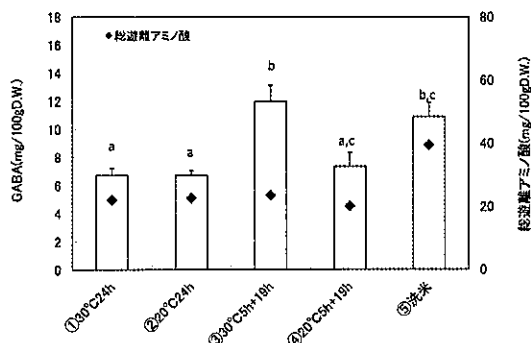


図 8 搗精歩留97%米の GABA 富化試験での GABA 含量と総遊離アミノ酸含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

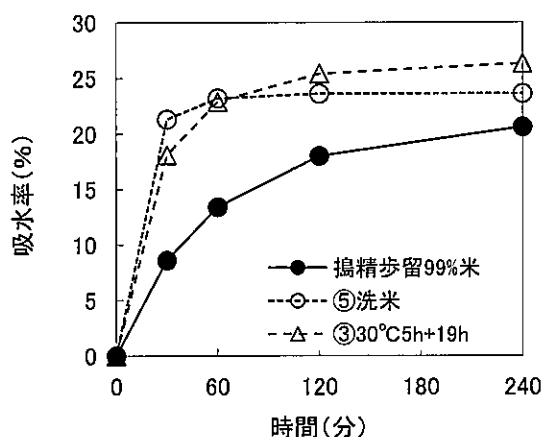


図 7 原料米 (搗精99%米) と GABA 富化米の吸水率

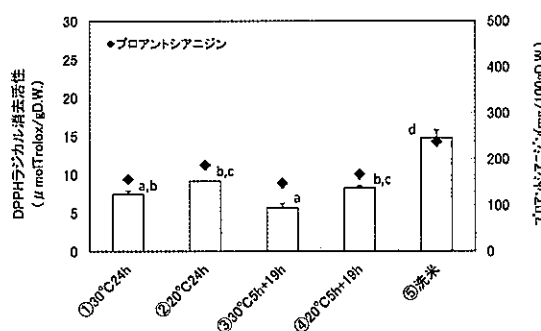


図 9 搗精歩留97%米の GABA 富化試験での DPPH ラジカル消去活性とプロアントシアニジン含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

り、プロアントシアニジン含量が高いと DPPH ラジカル消去活性も高かった。DPPH ラジカル消去活性が高く、プロアントシアニジン含量が多いのは、⑤区と②区であった。なお、DPPH ラジカル消去活性は⑤区と②区の 2 区に対して、①区、③区と④区の 3 区は、いずれも有意に低かった。

⑤区と③区の GABA 富化米と原料米の搗精歩留99%米の吸水率の結果を図 7 に示した。原料米に対し、⑤区と③区の GABA 富化米はいずれも吸水率が速くなっていた。また、原料米は240分浸漬時でも吸水率が一定にならなかったのに対し、⑤区と③区の GABA 富化米では120分で吸水率が一定になった。このことも玄米で試作した GABA 富化米と同様に製造時の吸水、乾燥による

組織の脆弱化が考えられた。

3) 搗精歩留97%米による GABA 富化米試験

富山赤71号の搗精歩留97%米で GABA 富化米を試作し、GABA 含量と総遊離アミノ酸含量との関係を図 8 に示した。なお、試料に用いた富山赤71号の搗精歩留97%米の GABA 含量は、1.4mg/100g であった。GABA 含量が多かったのは、③区の約12mg/100g、次に⑤区の約11mg/100g であった。これ以外の区の GABA 含量は約7mg/100g であった。GABA 含量は、③区と⑤区に対して①区と②区が有意に低かった。

また、DPPH ラジカル消去活性とプロアントシアニジンとの関係を図 9 に示したが、玄米及び搗精歩留99%米の場合と同様に

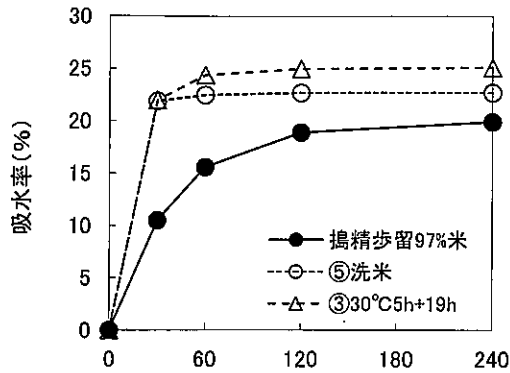


図10 原料米(搗精97%米)とGABA富化米の吸水率

DPPH ラジカル消去活性とプロアントシアニジンは相関しており、プロアントシアニジン含量が高いと DPPH ラジカル消去活性が高かった。DPPH ラジカル消去活性が高く、プロアントシアニジン含量が多いのは、⑤区のみであった。なお、DPPH ラジカル消去活性は⑤区に対して、これ以外の4区はいずれも有意に低かった。

⑤区と③区の GABA 富化米と原料米の搗精歩留97%米の吸水率の結果を図10に示した。原料米に対し、⑤区と③区の GABA 富化米は、いずれも吸水率が速くなっていた。また原料米は120分あたりで吸水率が一定になるのに対し、⑤区と③区の GABA 富化米では搗精歩留99%米と同様に60分で吸水率が一定になることが分かった。このことも玄米及び搗精歩留99%米で試作した GABA 富化米と同様に製造時の吸水、乾燥による組織の脆弱化が考えられた。

以上のことから、原料米に玄米、搗精歩留99%米、搗精歩留97%米のいずれを用いて GABA 富化米を試作しても、⑤区の方法が GABA 含量が多く、DPPH ラジカル消去活性も高く、吸水速度が速い試作品が得られることがわかった。

3. 試作した GABA 富化米と市販赤米発芽玄米品との成分等比較

市販の赤米発芽玄米 A 社、B 社と富山赤71号の玄米、搗精歩留99%米、搗精歩留97%米を用いて試作した GABA 富化米の成分等を

表3 市販品及び GABA 富化米の成分分析結果

製品/区分	発芽玄米 市販品		GABA富化米 玄米		GABA富化米 搗精歩留 99%米	GABA富化米 搗精歩留 97%米
	A社	B社	⑤区	②区	⑤区	⑤区
エネルギー(kcal/100gF.W.)	309	360	357	357	358	358
水分(g/100gF.W.)	22.6	11.0	11.6	11.6	11.3	11.9
たんぱく質(g/100gD.W.) ¹⁾	8.0	9.7	7.2	7.4	7.3	7.2
脂質(g/100gD.W.)	3.4	3.3	3.5	3.5	3.2	2.8
糖質(g/100gD.W.)	81.9	81.7	83.8	83.5	84.8	85.7
食物繊維(g/100gD.W.)	5.3	4.5	4.5	4.4	3.8	3.4
灰分(g/100gD.W.)	1.4	0.8	1.2	1.2	1.1	0.9
ビタミンB ₁ (mg/100gD.W.)	0.38	0.20	0.41	0.41	0.37	0.38
GABA(mg/100gD.W.)	9.1	0.6	13.1	10.5	13.5	11.9
プロアントシアニジン(mg/100gD.W.) ²⁾	171	25	420	352	357	228
DPPHラジカル消去活性 ³⁾	12.5	0.8	27.1	25.5	20.3	14.2

*1:たんぱく質換算係数 5.95

*2:カテキンとして換算

*3: $\mu\text{molTrolox/gD.W}$ として表示

表3に示した。富山赤71号を用いた GABA 富化米の成分的特徴としては、市販品に比べたんぱく質含量が低いこと、ビタミン B₁ 含量、GABA 含量及びプロアントシアニジン含量が多いこと、更に DPPH ラジカル消去活性が高いことがあげられる。特に GABA 富化米の特徴である GABA 含量は、市販品でも多く含まれていた A 社の 9 mg/100 g に対し、試作した GABA 富化米は 10 mg~13 mg/100 g とかなり多く含まれていた。更に赤米の特徴であるプロアントシアニジン含量は、市販品でも多く含まれていた A 社で 170 mg/100 g に対し、試作した GABA 富化米は 230 mg~420 mg/100 g とかなり多く含まれていた。同様に DPPH ラジカル消去活性も市販品で活性が高かった A 社が 12.5 $\mu\text{molTrolox/g}$ に対し、富山赤71号の GABA 富化米は 14.2~27.1 $\mu\text{molTrolox/g}$ とかなり活性が高かった。また、GABA 富化米は、搗精することにより各種成分含量等が低下しているが、市販品と比べると同等かそれ以上の値を示していた。

以上のことより、原料米として富山赤71号の玄米、搗精歩留99%米、搗精歩留97%米を用いて GABA 富化米を試作する場合は、⑤区の洗米後35°Cで12時間通風乾燥する方法が、市販品に比べても GABA 含量、プロアントシアニジン含量、DPPH ラジカル消去活性が、同等かそれ以上の良好なものが得られることが分かった。

要 約

赤米「富山赤71号」についてその成分等の特徴とGABA富化米を試作したところ、以下のことが分かった。

1. 富山赤71号はコシヒカリに比べ、食物繊維とプロアントシアニジン含量が多く、DPPHラジカル消去活性が高かった。
2. 搗精が進むにつれてプロアントシアニジン含量が減少し、抗酸化能が低下した。
3. 洗米後、35℃で12時間通風乾燥しGABA富化米を試作したところ、いずれの原料米（玄米、搗精歩留99%米、搗精歩留97%米）を用いてもGABA含量は11~12mg/100g程度になり、また抗酸化能も高かった。また、市販品と比べても成分等で同等かそれ以上のGABA富化米が得られることが分かった。

謝 辞

本試験にあたり、赤米を提供していただいた当センター農業研究所の主任研究員村田和優氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 大森正司, 矢野とし子, 岡本順子, 津志田藤二郎, 村井俊信, 樋口満, 嫌気処理緑茶(ギャバロン茶)による高血圧自然発症ラットの血圧上昇抑制作用, 日本農芸化学会誌, 61, 1449-1451 (1987).
- 2) 辻啓介, 市川富夫, 田辺伸和, 阿部士朗, 中川靖枝, 紅麴抽出物と γ -アミノ酪酸の高血圧自然発症ラットにおける血圧効果作用, 栄養学雑誌, 50, 285-291 (1992).
- 3) 土田隆, 益子研士, 山田勝彦, 平塚秀雄, 島田孝雄, 坂垣雪絵, 藤沼秀光, 鮫島浩二, 中村寿雄, 長谷川節, 松林垣夫, 血圧が高めの健常者および軽症高血圧に対する γ -アミノ酪酸高含有クロレラの効果, 56, 97-102

(2003).

- 4) 茅原敏, 杉浦知美, 近年のGABA生理機能作用-脳機能改善作用, 高血圧を中心に-, 食品と開発, 36, 4-6 (2001).
- 5) 財団法人日本食品分析センター編, 五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説 (2001).
- 6) 食品機能性の科学編集委員会編, 食品機能性の科学 (2008).
- 7) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一編, 食品機能研究法 (2000).
- 8) 第四回改正国税庁所定分析法注解, 日本醸造協会 (1993).
- 9) 山口誠之, 横上晴郁, 片岡知守, 滝田正, 東正昭, 加藤浩, 田村泰章, 小綿寿志, 赤米粳品種「紅衣」の育成, 東北農業研究センター研究報告, 103, 13-26 (2005).
- 10) 伊藤満敏, 大原絵里, 小林篤, 山崎彬, 梶亮太, 山口誠之, 石崎和彦, 奈良悦子, 大坪研一, 有色素米の抗酸化能とポリフェノール含量の測定, 日本食品科学工学会誌, 58, 576-582 (2011).
- 11) Suzuki K. and Maekawa T., Analysis on sprouting control of brown rice, Journal of the Society of Agricultural Structures Japan, 30, 1-10 (1999).
- 12) 佐竹利子, 福森武, 劉厚清, 河野元信, 佐々木泰弘, 高機能性米の調製加工技術の開発(第1報), 農業機械学会誌, 66(1), 115-121 (2004).
- 13) 佐竹利子, 福森武, 劉厚清, 目崎孝昌, 河野元信, 佐々木泰弘, 石渡健一, 高機能性米の調製加工技術の開発(第3報), 農業機械学会誌, 66(5), 115-121 (2004).
- 14) 佐竹利子, 福森武, 劉厚清, 河野元信, 佐々木泰弘, 高機能性米の調製加工技術の開発(第2報), 農業機械学会誌, 66(3), 91-97 (2004).



食用高トコトリエノール米(食用高 T3米)の成分等特性と γ -アミノ酪酸(GABA)富化米の品質とその保存性について

鹿島 真樹、加藤 一郎

(2013年 1月21日受理)

キーワード：食用高トコトリエノール米、成分等特性、GABA 富化米、保存性

富山県農林水産総合技術センター農業研究所では、米の糠部に含まれ抗酸化性等の機能性^{1)~5)}を有するトコトリエノールに着目し、トコトリエノール高生産イネを育成した⁶⁾。この「コシヒカリ」にトコトリエノールの高含有性を付加した食用高トコトリエノール米(食用高 T3米)について、報文「富山赤71号の成分等特性と機能性を保持した γ -アミノ酪酸富化米について」(報文富山赤71号)と同様に、その成分等の特徴、 γ -アミノ酪酸(GABA)を多く含む GABA 富化米の開発のための基礎的な知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 食用高 T3米の成分等について

1) 試料

平成22年産の農業研究所で収穫された食用高 T3米の玄米を用いた。対照として平成22年産の市販コシヒカリ玄米を用いた。

2) 搗精方法

報文富山赤71号と同様の方法で約99%に搗精した。

3) 成分分析

水分、たんぱく質、脂質、食物繊維、灰分、K、P、Mg、Fe、ビタミンB₁は報文富山赤71号と同様の方法で分析した。トコフェロール、トコトリエノールはPanfiliらの方法⁷⁾に準じて測定した。

4) 遊離アミノ酸

報文富山赤71号と同様の方法で分析した。

5) 表面色

報文富山赤71号と同様の方法で測定した。

2. γ -アミノ酪酸(GABA)富化米の試作と品質評価

1) 試料

平成22年産農業研究所で収穫された食用高 T3米の玄米と搗精歩留約99%米を調製し、試料として用いた。

2) GABA 富化米の製造方法

食用高 T3米の玄米、搗精歩留約99%米を用いた GABA 富化米の製造フローは報文富山赤71号と同様(図1)の5通りの方法で GABA 富化米を調製した。

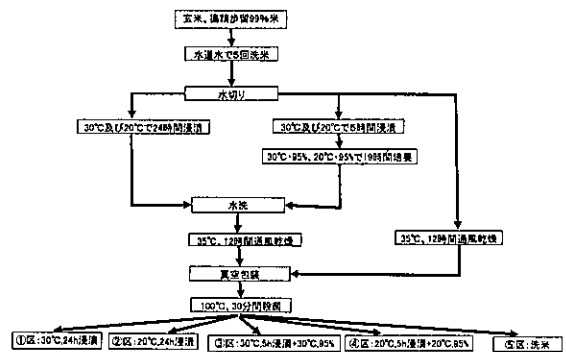


図1 GABA 富化米の製造フロー

3) 測定項目

水分、遊離アミノ酸、トコフェロール、トコトリエノール、米粒表面色、吸水率を測定した。吸水率は、国税庁所定分析法注解⁸⁾に準じて水温20℃で測定した。

3. 試作した GABA 富化米の保存試験

1) 試料

食用高 T3米の玄米、搗精歩留約99%米

から試作した GABA 富化米を用いた。

2) 包材及び保存温度等

試作した GABA 富化米は、約50 g 程度をナイロンフィルム (K ナイロン, 150mm × 250mm) に入れ、真空包装 (東静電気製 V-450G を用い約30mmHg まで減圧) したものの (真空包装区) と真空包装しない (含気包装区) ものを密封し、10℃と25℃の暗所で6ヶ月間保存した。

3) 測定項目

水分、トコフェロール、トコトリエノールを測定し、脂肪酸度は食糧庁標準計測方法⁹⁾で測定した。

4. 試作した GABA 富化米と市販発芽玄米品の成分等比較

1) 試料

食用高 T3米の玄米と搗精歩留約99%米から試作した GABA 富化米と、市販の発芽玄米2製品 (A社、B社) を用いた。

2) 測定項目

水分、たんぱく質、脂質、食物繊維、灰分、ビタミン B₁、遊離アミノ酸、トコフェロール、トコトリエノールを測定した。

実験結果および考察

1. 食用高 T3米の成分等について

食用高 T3米の玄米、搗精歩留99%米及び対照のコシヒカリの成分等の結果を表1に示した。食用高 T3米の玄米の成分等については、ほとんど対照のコシヒカリ玄米と違いはなかった。しかし、脂質と総トコトリエノール含量で差が見られ、総トコトリエノール含量は食用高 T3米で3.6mg/100g でコシヒカリの2.8mg/100g に比べ約1.3倍の含量であった。

食用高 T3米の玄米と搗精歩留99%米の成分等については、搗精することによって成分等はほとんど減少せず、損失はなかった。

表1 食用高 T3米及びコシヒカリの成分分析結果

品種/搗精歩留	食用高T3米		コシヒカリ 玄米	
	玄米	搗精歩留99%米	玄米	文献値 ¹⁾
エネルギー(kcal/100g)	349	351	343	350
水分(g/100g)	13.9	13.5	15.0	15.5
たんぱく質(g/100g) ¹⁾	6.4	6.2	6.3	6.8
脂質(g/100g)	3.2	3.3	2.8	2.7
糖質(g/100g)	72.0	72.7	71.5	70.8
食物繊維(g/100g)	3.2	3.0	3.3	3.0
灰分(g/100g)	1.3	1.3	1.1	1.2
K(mg/100g)	210	220	200	230
P(mg/100g)	300	300	250	290
Mg(mg/100g)	130	150	110	110
Fe(mg/100g)	0.8	1.0	0.8	2.1
ビタミンB ₁ (mg/100g)	0.43	0.43	0.41	0.41
α-トコフェロール(mg/100g)	1.5	1.3	1.6	1.2
β-トコフェロール(mg/100g)	0.1	0.1	0.1	0.1
γ-トコフェロール(mg/100g)	0.2	0.2	0.2	0.1
δ-トコフェロール(mg/100g)	0.0	0.0	0.0	0.0
総トコフェロール(mg/100g)	1.8	1.6	1.9	1.4
α-トコトリエノール(mg/100g)	1.0	0.9	0.9	
β-トコトリエノール(mg/100g)	0.1	0.1	0.1	
γ-トコトリエノール(mg/100g)	2.3	2.2	1.7	
δ-トコトリエノール(mg/100g)	0.2	0.2	0.1	
総トコトリエノール(mg/100g)	3.6	3.4	2.8	
米粒表面色L [*]	60.6	60.3	58.5	
米粒表面色a [*]	2.5	2.5	2.9	
米粒表面色b [*]	21.4	21.4	22.2	

*1:たんぱく質換算係数 5.95

1) 文部科学省科学技術・学術審査会資源調査分科会(2010).日本食品標準成分表2010

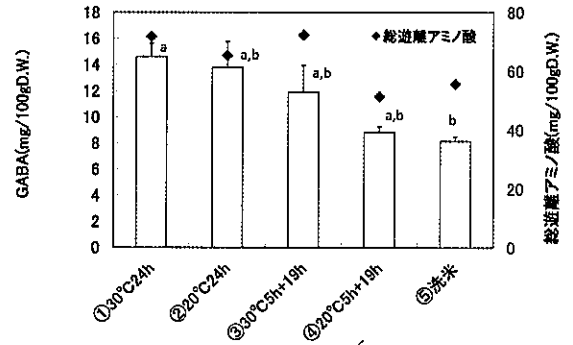


図2 食用高 T3米 (玄米) の GABA 富化試験での GABA 含量と総遊離アミノ酸含量 * 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

2. GABA 富化米の試作と品質評価

1) 玄米による GABA 富化試験

食用高 T3米の玄米で GABA 富化米を試作し、GABA 含量と総遊離アミノ酸含量の結果を図2に示した。なお、試料に用いた食用高 T3米の玄米の GABA 含量は、1.8mg/100g であった。①区と②区では14 mg/100g 程度の GABA 含量であったが、③区では12mg/100g 程度、④区と⑤区では8 ~ 9 mg/100g 程度であった。なおこの値を比較すると、①区に対して⑤区が有意に低

かった。玄米では GABA 生成のために浸漬する場合は 30℃ 近傍が適温で浸漬期間は 1～2 日とされている¹⁰⁾ が、①区と②区はこの条件に準じたものである。総遊離アミノ酸含量については、GABA 含量が高いものは総遊離アミノ酸含量も高い傾向が見られた。これらの結果から、食用高 T3米の玄米を用いて GABA を増やすには、①区と②区の 20℃～30℃ の水浸漬が好条件であると考えられた。

次に、原料米（玄米）と試作した GABA 富化米の総トコフェロール含量と総トコトリエノール含量の合計量（ビタミン E 含量）の結果を図 3 に示した。原料米に対してはどの区の GABA 富化米においてもビタミン E 含量は、6 mg/100 g 前後であり差はなかった。また、総トコトリエノール含量のみの結果を図 4 に示したが、この結果からも、どの区の GABA 富化米においても

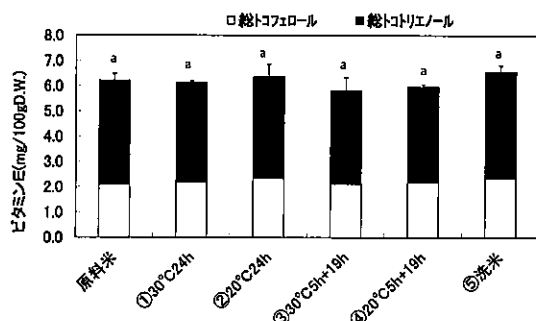


図 3 食用高 T3米（玄米）の GABA 富化米製造時の総トコフェロール含量と総トコトリエノール含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

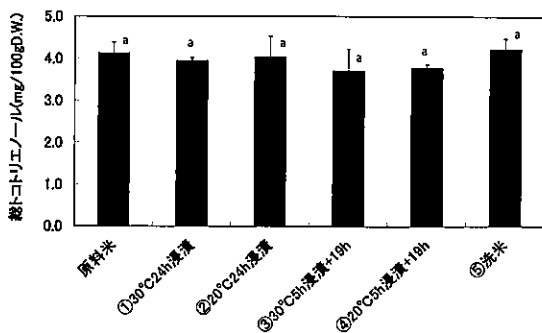


図 4 食用高 T3米（玄米）の GABA 富化米製造時の総トコトリエノール含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

総トコトリエノール含量は 4 mg/100g 前後であり、ビタミン E と同様に原料米と差はなかった。このため、いずれの方法で GABA 富化米を試作しても、ビタミン E 及び総トコトリエノール含量に影響を与えなかった。このことから食用高 T3米の玄米で GABA 富化米を試作する場合は、GABA 含量が多く、総トコトリエノール含量が保持されているのは、①区と②区の条件が適していると考えられた。

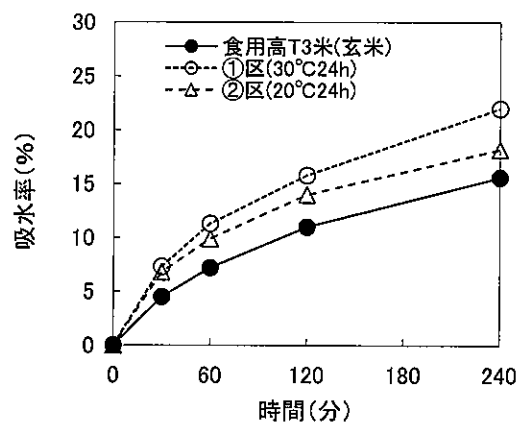


図 5 食用高 T3米（玄米）と GABA 富化米の吸水率

①区と②区の GABA 富化米と原料米（玄米）の 20℃ での吸水率を調べた結果は、図 5 に示した。原料米に対し、GABA 富化米はいずれも吸水率が速くなっていた。また原料米では 240 分経過時でも 15% の吸水率しかなかったのに対し、GABA 富化米では 240 分経過時には 18%～22% の吸水率であり、GABA 富化米の吸水量も多かった。このことは、GABA 富化米製造時の吸水や乾燥により組織が脆弱化して吸水しやすくなったことが考えられた。このため GABA 富化米の吸水速度が速くなることにより通常の玄米に比べて水浸漬時間の短縮が図られる可能性が示唆された。

2) 搗精歩留 99% 米の GABA 富化米試験

食用高 T3米の搗精歩留 99% 米で GABA 富化米を試作し、GABA 含量と総遊離アミ

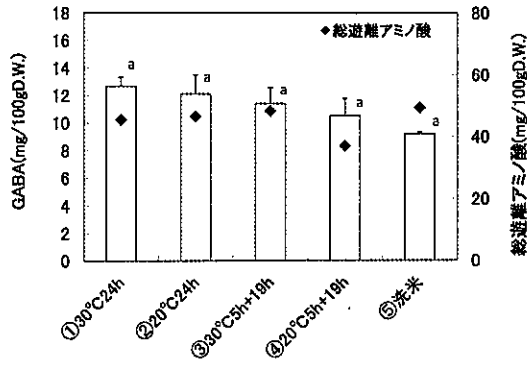


図6 食用高T3米(99%米)のGABA富化試験でのGABA含量と総遊離アミノ酸含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

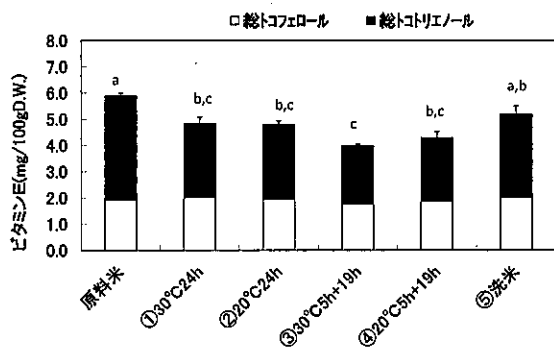


図7 食用高T3米(搗精99%米)のGABA富化米製造時の総トコフェロール含量と総トコトリエノール含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

ノ酸含量を図6に示した。なお、試料に用いた食用高T3米の搗精歩留99%米のGABA含量は、1.5mg/100gであった。これより①区、②区、③区、④区では11~12mg/100g程度、⑤区では9mg/100gであり、この値を比較すると差はなかった。また、総遊離アミノ酸含量については、いずれの区においても大差はなかった。

原料米(99%米)とGABA富化米のビタミンE含量を図7に示した。いずれのGABA富化米製造法でも、原料米の約6mg/100gの含量に対していずれのGABA富化米も4mg~5mg/100gの範囲であり、原料米に対して⑤区以外は有意に減少していた。また、総トコトリエノール含量のみの結果を図8に示したが、この結果からは原料米に対してどの区のGABA富化米に

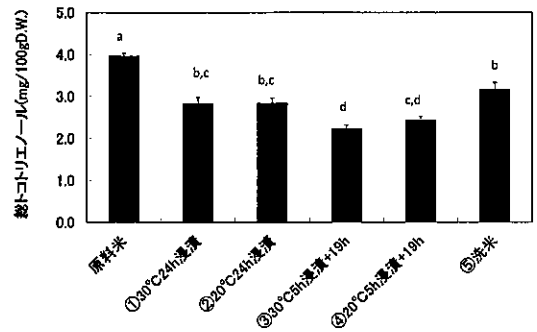


図8 食用高T3米(搗精99%米)のGABA富化米製造時の総トコトリエノール含量
* 異符号間で有意差あり (p<0.05) (n=3)

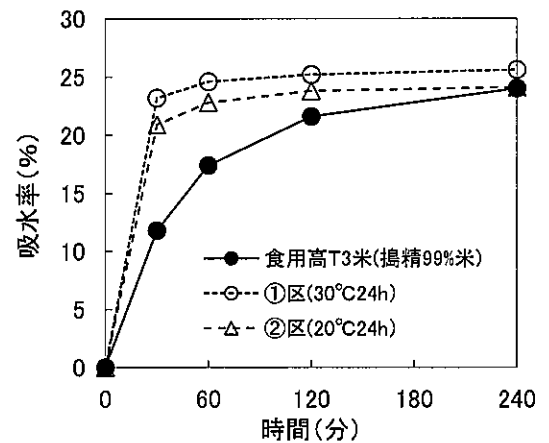


図9 食用高T3米(99%米)とGABA富化米の吸水率

においても総トコトリエノール含量は有意に減少していた。この減少の原因は、洗米時及び浸漬時の表面からの糠の流出が原因と考えられた。

①区と②区のGABA富化米と原料米の搗精歩留99%米の吸水率の結果を図9に示した。原料米に対し、GABA富化米はいずれも吸水率が速くなっていた。また、原料米は240分浸漬時でも吸水率が一定にならなかったのに対し、GABA富化米では120分で吸水率約24%と一定になった。このことは、玄米で試作したGABA富化米とは異なり、組織の脆弱化に加え搗精により吸水しやすくなったと考えられた。

3. 試作したGABA富化米の保存試験

玄米でGABA富化米を試作し、10°C及び25°Cで含気包装・真空包装して6ヶ月間の保

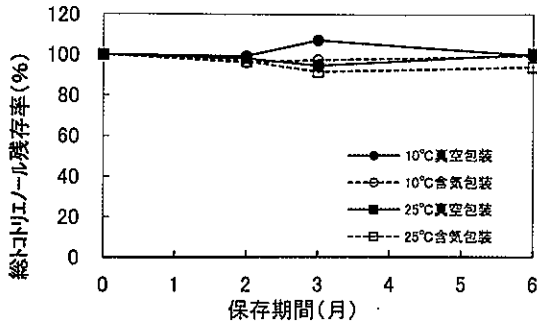


図10 食用高 T3米 (玄米) の GABA 富化米の保存中の総トコトリエノール残存率の変化

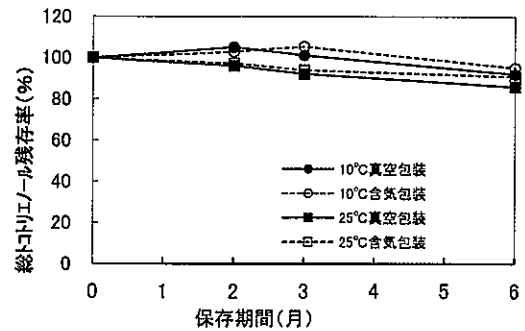


図12 食用高 T3米 (搗精99%米) の GABA 富化米の保存中の総トコトリエノール残存率の変化

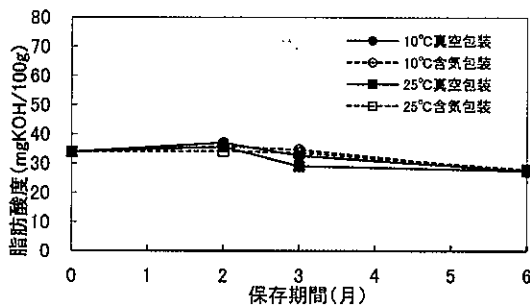


図11 食用高 T3米 (玄米) の GABA 富化米の保存中の脂肪酸度の変化

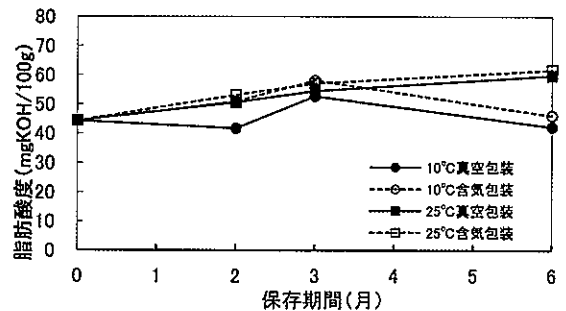


図13 食用高 T3米 (搗精99%米) の GABA 富化米の保存中の脂肪酸度の変化

存試験を実施し、総トコトリエノール残存率の変動を図10に、脂肪酸度の変動を図11に示した。これより玄米で試作した GABA 富化米は、6ヶ月保存後も総トコトリエノール残存率、脂肪酸度いずれにおいても保存当初の値を保持していた。なお、ここではデータを示さないが、総トコフェロール残存率についても保存温度及び保存形態の影響を受けず、保存当初の値を保っていた。この結果は、小浜らの報告¹¹⁾で加熱処理をしない発芽玄米の保存で脱酸素剤を入れないものでは劣化が進行したという結果と、一致しなかった。これは包装前における試料の加熱処理の有無が大きく関与していると考えられた。

搗精歩留99%米で GABA 富化米を試作し、10℃及び25℃で含気包装・真空包装して保存試験を実施し、総トコトリエノール残存率の変動を図12に、脂肪酸度の変動を図13に示した。総トコトリエノール残存率は、玄米で試作した GABA 富化米がほとんど低下しなかつたのに対し、搗精歩留99%米では6ヶ月保存後では温度・包装形態に関わらず約90%前後に低下していた。脂肪酸度については、保存試験開始時の搗精歩留99%米の GABA 富化米では脂肪酸度の値が44mgKOH/100gで、玄米の GABA 富化米の34mgKOH/100gに対して値が高く、玄米より初発で既に劣化している可能性が示唆された。また、保存温度及び包装形態に関係なく3ヶ月保存で上昇していたことから、脂質劣化の進行が予想された。これらの結果から99%米を用いた GABA 富化米は、保存温度、保存形態に関係なく総トコトリエノール残存率が低下し、脂肪酸度が上昇することから、保存性が低下すると考えられた。

たのに対し、搗精歩留99%米では6ヶ月保存後では温度・包装形態に関わらず約90%前後に低下していた。脂肪酸度については、保存試験開始時の搗精歩留99%米の GABA 富化米では脂肪酸度の値が44mgKOH/100gで、玄米の GABA 富化米の34mgKOH/100gに対して値が高く、玄米より初発で既に劣化している可能性が示唆された。また、保存温度及び包装形態に関係なく3ヶ月保存で上昇していたことから、脂質劣化の進行が予想された。これらの結果から99%米を用いた GABA 富化米は、保存温度、保存形態に関係なく総トコトリエノール残存率が低下し、脂肪酸度が上昇することから、保存性が低下すると考えられた。

4. 試作した GABA 富化米と市販発芽玄米品との成分等比較

発芽玄米の市販品 A、B と食用高 T3米 (玄米、搗精歩留99%米) の①区の GABA 富化米の成分を表2に示した。食用高 T3米の玄米

表2 市販発芽玄米品及びGABA富化米の成分分析結果

製品/搗精歩留	市販発芽玄米品		食用高T3米 GABA富化米	
	A社	B社	玄米	搗精歩留 99%米
エネルギー(kcal/100gF.W.)	349	350	357	388
水分(g/100gF.W.)	14.2	14.0	11.6	11.3
たんぱく質(g/100gD.W.) ^{*1}	8.3	7.6	7.3	7.0
脂質(g/100gD.W.)	3.7	4.1	3.9	3.4
糖質(g/100gD.W.)	83.3	83.0	83.7	85.6
食物繊維(g/100gD.W.)	3.1	3.8	3.6	3.0
灰分(g/100gD.W.)	1.5	1.5	1.5	1.0
ビタミンB ₁ (mg/100gD.W.)	0.43	0.49	0.48	0.37
GABA(mg/100gD.W.)	14.8	18.5	15.3	13.5
総トコフェロール(mg/100gD.W.)	1.3	1.9	2.1	2.0
総トコトリエノール(mg/100gD.W.)	1.4	2.8	4.0	2.9

*1:たんぱく質換算係数 5.95

を用いたGABA富化米は、一般成分、ビタミンB₁、GABA、総トコフェロール含量は市販品と大きな差は認められなかった。しかし、総トコトリエノール含量は、市販品Aが1.4mg/100g、市販品Bが2.8mg/100gであり、食用高T3米の玄米を用いたGABA富化米では4.0mg/100gと市販品より高かった。また、搗精歩留99%米を用いたGABA富化米では、たんぱく質、脂質、灰分、ビタミンB₁が市販品より低めであり、総トコトリエノール含量は市販品Bと同程度の含量で食用高T3米の特徴を示していなかった。

以上のことより、食用高T3米の玄米を用いたGABA富化米は、市販発芽玄米品より総トコトリエノール含量が高く、栄養成分、GABA含量は市販品と同程度のものが得られることが考えられた。

要 約

食用高T3米について、その成分等の特徴について調査し、GABA富化米を試作したところ以下の結果を得た。

1. 食用高T3米はコシヒカリに比べ、総トコトリエノール含量が1.3倍であった。その他の成分についてはコシヒカリと違いは認められなかった。
2. 食用高T3米の玄米を用いてGABA富化米

を試作したところ、20℃、30℃で24時間浸漬する方法がGABA含量が多く、総トコトリエノール含量の損失がほとんど無かった。

3. 食用高T3米の玄米を用いたGABA富化米を包装したものは、6ヶ月保存においても総トコトリエノールの損失がほとんど無かった。
4. 食用高T3米の玄米を用いたGABA富化米は、市販発芽玄米品と比べ総トコトリエノール含量が高く、栄養成分、GABA含量は市販品と同等のものが得られた。

謝 辞

本試験にあたり、食用高トコトリエノール米を提供していただいた当センター農業研究所の主任研究員村田和優氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Sen CK, Khanna, S., Roy S., Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols, Life Sciences, 78, 2088-2098 (2006) .
- 2) Qureshi AA, Pearce BC, Nor RM et al, Dietary α -tocopherol attenuates the impact of γ -tocotrienol on hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in chickens, J. Nutr., 126, 389-394 (1996) .
- 3) Iqbal S., Bhanger M. I., Anwar F., Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan, Food Chem., 93, 265-272 (2005) .
- 4) Noguchi N., Hanyu R., Nonaka A. et al, Inhibition of THP-1 cell adhesion to endothelial cell by α -tocopherol and α -tocotrienol is dependent on intracellular concentration of the antioxidants, Free Radic. Biol. Med., 34, 1614-1620 (2003) .
- 5) Eitsuka T., Nakagawa K., Miyazawa T., Down-regulation of telomerase activity in

- DLD-1 human colorectal adenocarcinoma cells by tocotrienol, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **348**, 170-175 (2006) .
- 6) 村田和優, 伊山幸秀, 木村俊之, Sookwong Phumon, 仲川清隆, 宮澤陽夫, トコトリエノール高生産イネの育成, 富山県農林水産総合技術センター農業研究所研究報告, **3**, 15-21 (2012) .
- 7) Gianfranco Panfili, Alessandra Fratianni, Mario Irano Nomal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3940-3944 (2003) .
- 8) 第四回改正国税庁所定分析法注解, 日本醸造協会 (1993) .
- 9) 標準計測方法:食糧庁, 東京, 86-88 (1989) .
- 10) Suzuki K. , Maekawa T. , Analysis on sprouting control of brown rice, *Journal of the Society of Agricultural Structures*, **30**, 1-10 (1999) .
- 11) 小浜恵子, 三浦達夫, 涌井徹, 脱酸素剤の発芽玄米保存への影響と化学発光による品質評価, *日本食品科学工学会誌*, **52**, 532-534 (2005) .



非加熱豆乳の凍結分離における大豆脂質の影響

中川 義久、守田 和弘

(2013年1月21日受理)

豆腐製造用の豆乳は、通常、加熱されており、その豆乳を凍結、解凍した場合、タンパク質が凝集し、豆腐が製造できなくなる。しかし、凍結、解凍後一定条件で加熱することで豆腐製造可能な豆乳を得ることができる¹⁾。加熱豆乳を凍結して、タンパク質の凝集を利用した大豆イソフラボン、フィチン酸等の成分組成の調整について報告されている²⁾。また、非加熱豆乳についても、解凍条件を制御することで、外観が上層、下層の2層に分離すること、また、分離した2層の豆乳に含まれるタンパク質や脂質の成分組成が異なることが、示されている³⁾。

そこで、この分離に凍結・解凍が関与していることを示すとともに、分離豆乳の脂質含量が大きく異なることに着目し、非加熱豆乳の凍結分離における大豆脂質の影響について、タンパク質の変性が少ないジエチルエーテル脱脂大豆⁴⁾から調製した非加熱豆乳とを用い、比較検討した結果を報告する。

実験方法

1. 非加熱豆乳の調製

2009年富山県産「エンレイ」100gを20℃で16時間浸漬水切り後、水440gを加え、ミキサー (Panasonic MX-X108) で低速回転2分間攪拌し、ジューサー (Styleplus power

juicer) でオカラを分離した後、泡消剤 (信越化学 シリコン KM-72) を1滴添加し、窒素濃度0.8%になるよう加水し、非加熱豆乳 (SMT) を調製した。

2. 脱脂大豆粉の調製

2009年富山県産「エンレイ」を遠心粉碎機 (φ0.5mmスクリーン使用) で粉碎し、大豆粉を得た。その大豆粉を10倍量のジエチルエーテル液に浸漬し、1晩放置した後、G3ガラスフィルターで吸引ろ過し、ジエチルエーテルで洗浄し、残渣を風乾したものを脱脂大豆粉とした。大豆および調製した大豆粉の成分を表1に示した。

3. 非加熱脱脂豆乳の調製

脱脂大豆粉50gに水200mlを加え、ミキサーで低速回転2分間攪拌した後、泡消剤を1滴添加し、大豆粉懸濁液を得た。この大豆粉懸濁液を1,000RPMで2分間遠心分離した。その後、沈殿残渣を分離し、窒素濃度0.8%になるよう加水し、非加熱脱脂豆乳 (DFT) を調製した。

4. 凍結解凍分離方法

非加熱脱脂豆乳と非加熱豆乳をそれぞれ、50ml容のポリカーボネイト製遠心チューブに30~40ml採り、-28℃で24時間凍結し、10℃の恒温器で16時間解凍または、30℃の水浴で3時間解凍後、1,000RPMで2分間遠心

表1. 大豆及び脱脂大豆粉の成分

	水分(g/100g)	窒素(g/100g)	脂質(g/100g)
大豆	11.5	6.5	23.6
脱脂大豆粉	5.2	7.9	3.6

表2. 試料名と処理条件

試料名	豆乳の調製	処理条件
SMF	非加熱	-28°C24時間凍結後10°C16時間
SMC	非加熱	4°C24時間冷蔵後10°C16時間
DFF	脱脂非加熱	-28°C24時間凍結後10°C16時間
DFC	脱脂非加熱	4°C24時間冷蔵後10°C16時間
DFT	脱脂非加熱	
SMT	非加熱	

* 各試料を遠心分離後、分取した上層をU、下層をDとし、試料名の後に加えた。

分離した。目視で上層、下層分離を確認し、ピペットで上層を分取したものを上層、残りを下層とした(表2)。

5. 試験方法

pH: ガラス電極法

色: 測色計(日本電色 Spectro Color Meter SE2000)を用い、試料の10倍希釈液を粉体セルに入れ、L*、a*、b*表色系にて測定。

吸光度: 10倍希釈液 OD660nm

窒素濃度: ケルダール法

脂質濃度: クロロホルム-メタノール改良法

6. 平均粒形、粒度分布測定

レーザー回折粒度分布測定装置(株島津製作所 SALD-2100)を用い、各試料を測定可能濃度に適宜希釈し測定した。

結 果

1. 凍結による影響

凍結による影響を検討するため、非加熱豆

乳を凍結したSMFと対照のSMCを比較したところ、SMFは、外観で明確にわかる2層に分離しており、その分離は外観で明確に判断できた。この2層を分取し上層をSMFU、下層をSMFDとし、その重量比を測定したところ、上層の比率が66.4%であった。対照であるSMCは、分離は明確ではなかったが、同様の方法で、SMFと同じ重量比で、上層、下層に分離した。

このように分離した4試料と分離前のSMTについて、pH、色、吸光度、窒素濃度、脂質濃度、平均粒形を測定した結果を表3に、粒度分布を図1に示した。

pHは、いずれの試料も6.4以上であり、大豆タンパク質のpHによる凝集領域ではない。また、外観での2層の分離は、色と吸光度に反映しており、色ではL*がSMFUで15.1、SMFDで59.5、吸光度がSMFUで0.69、SMFDで3.36であり、L*がSMCUで53.1、SMCDで58.4、吸光度がSMCUで3.22、SMCDで3.14であり、冷蔵では上層と下層に

表3. 凍結分離豆乳と冷蔵分離豆乳のpH、色、窒素濃度、脂質濃度及び平均粒形

試料名	重量比	pH	色			吸光度	窒素濃度(%)	脂質濃度(%)	平均粒径(μm)
			L*	a*	b*				
SMFU	66.4	6.48	15.1	-0.1	-5.4	0.69	0.51	0.2	6
SMFD	35.6	6.48	59.5	-1.4	-3.8	3.36	1.42	6.7	83
SMCU	66.4	6.44	53.1	-1.4	-4.4	3.22	0.79	2.2	7
SMCD	35.6	6.44	58.4	-1.9	-3.0	3.14	0.90	2.8	195
SMT		6.46	54.3	-1.5	-3.9	3.15	0.80	2.4	13
DFFU	57.6	6.42	11.3	0.0	-4.5	0.39	0.45		6
DFFD	42.4	6.42	42.9	-1.3	-8.9	2.82	1.34		84
DFCU	57.6	6.41	33.6	-0.9	-10.2	2.13	0.75		8
DFCD	42.4	6.41	42.4	-1.5	-7.4	2.65	0.93		110
DFT		6.43	33.0	-0.7	-9.8	2.18	0.79	0.5	69

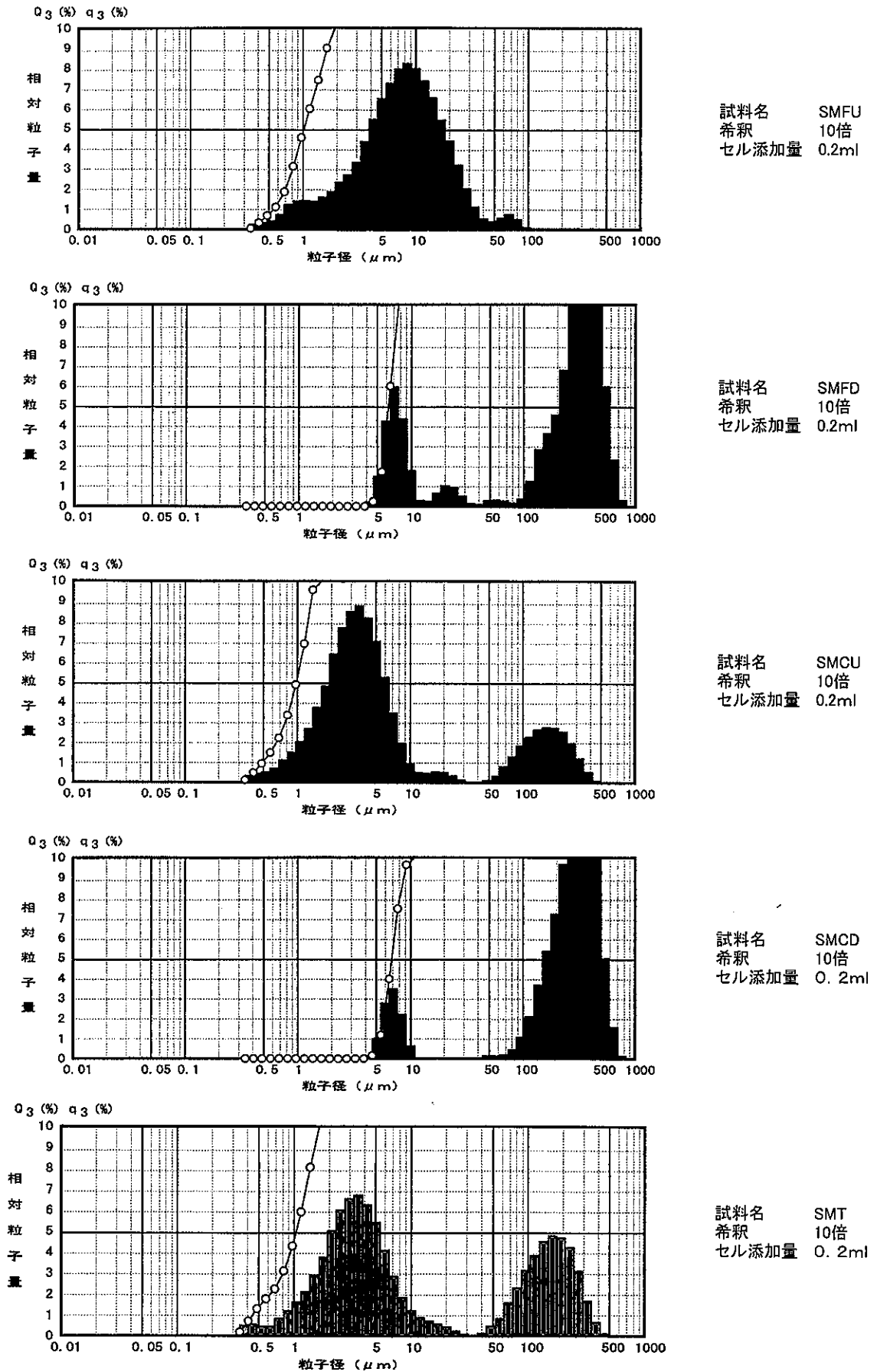
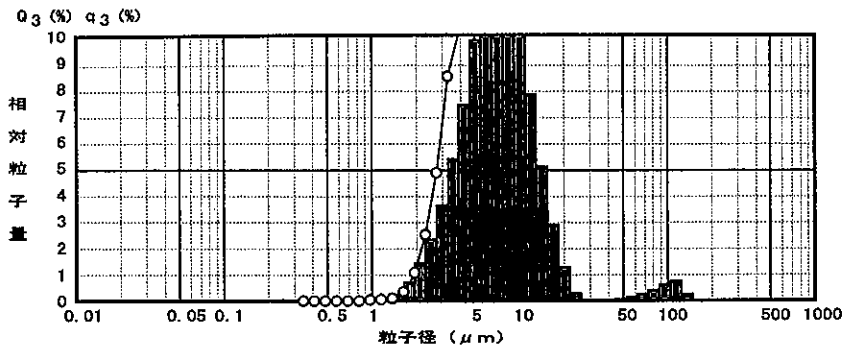
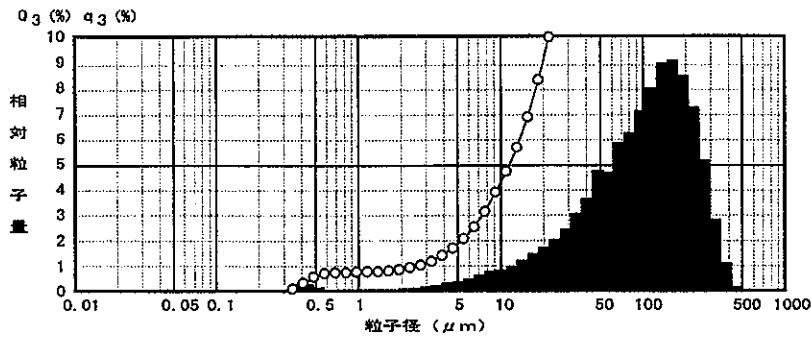


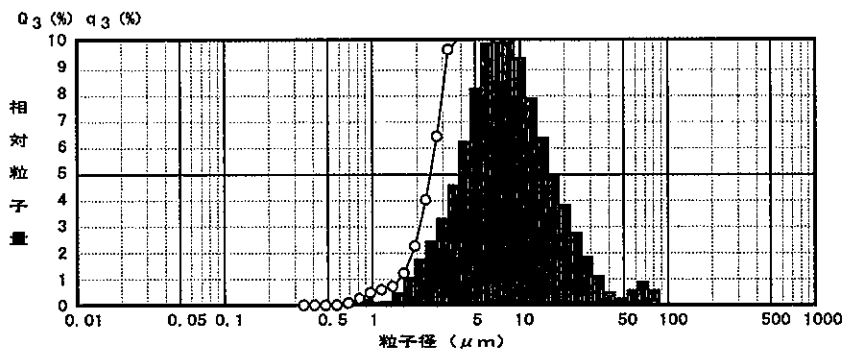
図1. 非加熱豆乳の粒度分布



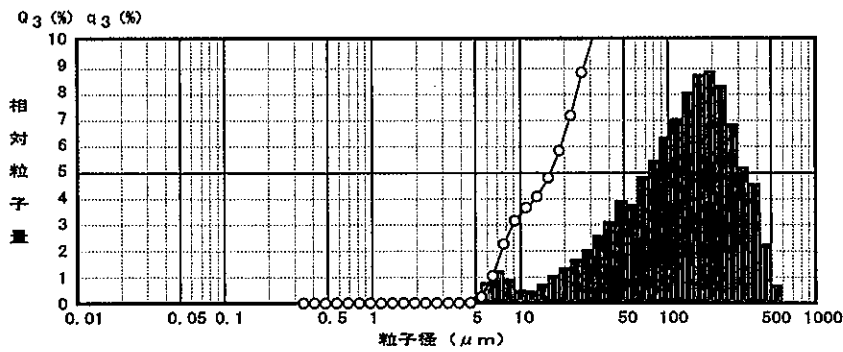
試料名 DFFU
希釈 10倍
セル添加量 0.2ml



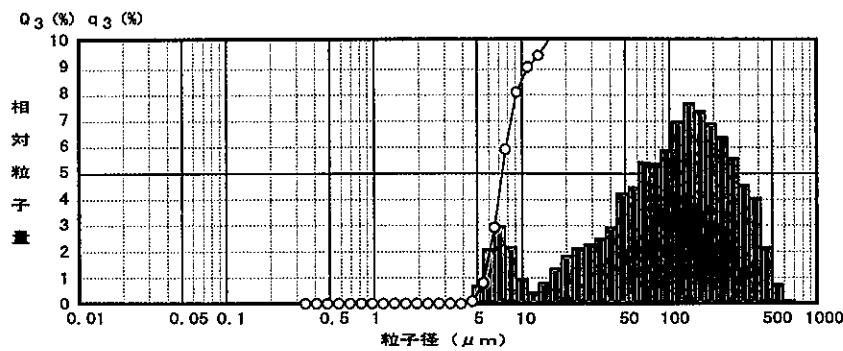
試料名 DFFD
希釈 10倍
セル添加量 0.2ml



試料名 DFCU
希釈 10倍
セル添加量 0.2ml



試料名 DFCD
希釈 10倍
セル添加量 0.2ml



試料名 DFT
希釈 10倍
セル添加量 0.2ml

図2. 非加熱脱脂豆乳の粒度分布

明確な差がなかった。また、窒素濃度については、冷凍ではSMFUで0.51%、SMFDで1.42%とより大きな差が認められたが、冷蔵では、SMCU 0.79%、SMCD 0.90%で大きな差はみられなかった。さらに、脂質については、冷蔵は、SMCU 2.2%、SMCD 2.8%であったが、冷凍ではSMFUで0.2%、SMFDで6.7%と豆乳の脂質の95%が下層に存在していた。

粒度分布については、分離前の豆乳全体SMTでは、0.3~30 μm と30~500 μm の粒子径の2つの粒子群が存在しており、64%が30 μm 以下であった。SMFUでは、96%が30 μm 以下であり、100 μm 以上の粒子はほとんど存在していなかった。一方、SMFDでは、30 μm 以下の粒子が22%と少なく、100~1,000 μm の間に約77%の粒子が存在していた。

対照のSMCUでは、78%が30 μm 以下であり、残りは、30~500 μm に分布していた。SMCDでは、10%が30 μm 以下であった。

大豆の脂質の主な成分である脂肪酸は、水より比重が軽い。しかし、SMFUの脂質濃度が0.2%で上層にほとんど脂質が無いことから、比重の重いエマルジョンを形成し、下層に存在していると考えられる。また、SMCUとSMCDでは、脂質濃度の大きな差はなく、色の L^* 、吸光度にも大きな差はなかった。このことから、2層分離は、冷凍・解凍により引き起こされること、この分離には脂質が関与しており、SMTで全体に存在していたエマルジョンが、冷凍・解凍によりエマルジョンが存在しない上層と存在する下層に分れ、各分離層は、 L^* 、吸光度に差が生じたと考えられた。

2. 脂質の影響

分離における脂質の影響を検討するため、分離における脂質の影響を検討するため、分離における脂質の影響を検討するため、非加熱脱脂豆乳DFTについて、凍結したDFFと対照のDFCを比較した。DFTは、脱脂により脂質含量が0.5%とSMTの2.4%に

比べ減少した。また、吸光度も2.18とSMTの3.15に比べ低くなっていた。非加熱脱脂豆乳を凍結したDFFは、SMFと同様に2層に分離しておりその重量比は上層が57.6%、下層が42.4%であり、脱脂しないものに比べ下層の比率が7%高かった。対照であるDFCもSMCと同様で分離は明確ではなかったが、同様の方法で、分取し、脂質濃度を除く同様の項目を測定した。

外観での2層の分離は、色と吸光度に反映しており、色では L^* がDFFUで11.3、DFFDで42.9、吸光度がDFFUで0.39、DFFDで2.82であり、DFCUで33.6、DFCDで42.4、吸光度がDFCUで2.13、DFCDで2.56であり、全体的に値は脱脂をしないものに比べ低いが、脱脂をしないものと同様の傾向を示した。また、窒素濃度については、冷凍ではDFFUで0.45%、DFFDで1.34%と差が認められたが、冷蔵では、SMCU 0.75%、SMCD 0.93%で大きな差はみられず、脱脂をしないものと同様の傾向を示した。

粒度分布(図1、図2)については、分離前の豆乳全体DFTでは、5~13 μm と13~700 μm の粒子径の2つの粒子群が存在しており、9%が13 μm 以下であった。DFFUでは、100%が13 μm 以下であった。DFFDでは、5.6%が13 μm 以下であり、残りは13~500 μm の粒径の粒子であった。

対照のDFCUでは、98%が50 μm 以下であり、残りは、50~90 μm に分布していた。DFCDでは、200 μm をピークに0.3~700 μm に広く分布していた。

要 約

1. 非加熱豆乳の2層分離は、豆乳を凍結しない低温で放置しただけでは、吸光度、色に大きな差が認められず、凍結による液体-固体-液体という相変化が影響していると考えられた。
2. 上層には、脂質がほとんどないことから、

2層分離に脂質が関与しており、上層にエマルジョンが存在しないことから吸光度が低くなり、2層に分離したと考えられた。

3. 脱脂豆乳においても、2層分離が確認されたが、全体として吸光度が低下していることから、脂質の濃度は、豆乳の吸光度に影響していると考えられた。

謝 辞

試料提供や試作に御協力いただいた富山県豆富商工組合の皆様へ心から謝辞を表します。

文 献

- 1) 豆腐を製造する方法, 特許4065909号, (2007).
- 2) 機能性成分濃度を調節できる充填豆腐製造技術, 中川義久・鹿島真樹, 富山農総セ食研報告, 1, 7-12 (2010).
- 3) 凍結解凍処理による豆乳中7S・11S グロブリンの簡易分画技術, 守田和弘・横井健二, 日食科工誌, 58, 392-397 (2011).
- 4) 脱脂方法が大豆タンパク質のCa凝固に及ぼす影響, 中川義久・守田和弘, 富山農総セ食研報告, 2, 23-25 (2014).

脱脂方法が大豆タンパク質のCa凝固に及ぼす影響

中川 義久、守田 和宏

(2013年1月21日受理)

大豆には、食用油として利用される脂肪酸をはじめリン脂質などの脂質が含まれており、その脂質が、豆乳・豆腐の品質、製造適性に影響していることは良く知られている。しかし、その作用メカニズムについては、まだ不明な点が多い。そこで、本試験では、ジエチルエーテル、クロロホルム、クロロホルム-メタノール混液の極性の異なる溶媒で、脱脂した大豆粉から豆乳を試作し、その成分、Ca凝固性¹⁾などを測定し、脂質が豆腐製造に及ぼす影響について検討した。

実験方法

1. 脱脂大豆粉の調製

2002年富山県産「エンレイ」を遠心粉碎機(φ0.5mmスクリーン使用)で粉碎し、大豆粉を得た。その大豆粉を10倍量のジエチルエーテル、クロロホルム、クロロホルム-メタノール(2:1)混液にそれぞれ浸漬し、5℃

で1晩放置した後、G3フィルターでろ過洗浄し、残渣を風乾したものを以下、大豆粉、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂、クロロホルムエタノール脱脂とする。

調製した大豆粉の成分組成を表1.に示した。表1.において、脂質Iを脂肪酸などの極性の小さい脂質、脂質IIをリン脂質などの極性の強い脂質として、それぞれの脱脂効率を比較すると、エーテル脱脂は、脂質Iで96%、脂質IIで57%、クロロホルム脱脂は、脂質Iで95%、脂質IIで80%、クロロホルム-メタノール脱脂は、脂質Iで94%、脂質IIで87%であった。このように、脂質含量と組成の異なる脱脂大豆粉を調製することができた。

2. 豆乳の調製

大豆粉からの豆乳の調製は、以下の方法で行った。まず、各大豆粉50gに水350mlを加え、ミキサー(Panasonic MX-X108)低速回転で2分間攪拌した後、泡消剤(信越化学シリコンKM-72)1滴を添加し、スターラ

表1. 調製した大豆粉の成分組成

調製方法	(g/100g)				
	水分	窒素濃度	脂質I	脂質II	灰分
大豆粉	8.7	6.62	21.7	7.9	5.4
ジエチルエーテル脱脂	11.0	8.72	0.9	3.4	6.7
クロロホルム脱脂	11.3	8.63	1.1	1.6	6.6
クロロホルム-メタノール脱脂	11.1	8.93	1.2	1.0	6.7

脂質I: ソックスレー抽出法により測定した脂質量

脂質II: クロロホルム-メタノール混液抽出法により測定した脂質量-脂質I

水分: 105℃常圧乾燥法

窒素濃度: ケルダール法

灰分: 550℃直接灰化法

窒素濃度、脂質I、脂質II、灰分は、無水物換算値

表2. 調製した大豆粉懸濁液および豆乳の窒素濃度と pH

調製方法	大豆粉懸濁液		豆乳	
	窒素濃度(%)	pH	窒素濃度(%)	pH
大豆粉	0.77	6.44	0.75	6.55
エーテル脱脂	0.97	6.45	0.90	6.51
クロロホルム脱脂	0.95	6.35	0.93	6.54
クロロホルムメタノール脱脂	0.99	6.56	0.68	6.60

ーで1時間攪拌(室温)し、大豆粉懸濁液を得た。この大豆粉懸濁液をグリセリン浴で90~100℃、2分間加熱し、室温まで氷水で急冷した後、3,000RPMで10分間遠心分離により、沈殿残渣を分離し、豆乳を調製した。なお、それぞれ調製した大豆粉懸濁液及び豆乳の窒素濃度、pHを表2に示した。

結 果

大豆粉、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂においては、大豆粉懸濁液と豆乳の窒素濃度にはほとんど差がなく、脂質が、豆乳製造におけるタンパク質の可溶性に大きく影響している可能性はないと考えられた。しかし、クロロホルムメタノール脱脂において、豆乳の窒素濃度の低下、すなわち、タンパク質の不溶化が認められた。クロロホルムメタノール脱脂大豆懸濁液に脱脂した脂質を0~2%添加し、豆乳を調製した結果を表3に示した。その結果、脂質濃度による窒素濃度の増加は、ほとんど認められず、クロロホルムメタノール脱脂におけるタンパク質の不溶化は、アルコール変性によるものと考えられた。

表3. クロロホルムメタノール脱脂大豆の脂質添加濃度と豆乳の窒素濃度

脂質添加濃度(%)	窒素濃度(%)
0	0.458
0.5	0.475
1	0.476
1.5	0.48
2	0.474

調製した豆乳の窒素濃度を0.6%と0.3%に加えて調整し、そのCa凝固・凝集性を調べた。0.6%豆乳について落下区分比を測定した結果を図1に示した。大豆粉豆乳、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂豆乳では、凝固するCa濃度の低濃度側は、5mMで一致していたが、高濃度側は、大豆粉7mM、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂豆乳6mMであった。また、凝集状態である10~15mMの落下区分比が、大豆粉豆乳48%、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂豆乳53%と差が認められた。さらに、クロロホルムメタノール脱脂豆乳については、著しく凝固性が変化した。次に、0.3%豆乳については、落下区分のOD660と窒素濃度を測定した結果を図2に示した。窒素濃度0.3%では安定した凝固状態が得られないため、落下区分の吸光度を凝集状態の指標とした。大豆粉豆乳は、脂質が乳化しているため、豆乳の吸光度が高かったが、その減少、すなわち凝集については、窒素濃度0.6%と同じ挙動を示した。タンパク質の不溶化による落下区分の窒素濃度の減少も同様であり、CaCl₂7mMでは、大豆粉豆乳、エーテル脱脂、クロロホルム脱脂豆乳は、0.25%、クロロホルムメタノール脱脂豆乳では、0.38%であった。

大豆粉豆乳とエーテル脱脂、クロロホルム脱脂豆乳の結果では、豆乳のCa凝固する低濃度側のCa濃度は、脂質の有無による差はなく、凝集する低濃度側のCa濃度が、脂質が無い方が低濃度で凝集していた。これらのことから、豆乳のCa凝固においては、Caと脂質には、リン脂質とのキレート形成などの顕著な化学的相互作用は、認められなかった。また、凝集を阻害し、豆乳の凝固状態を維持していることから、

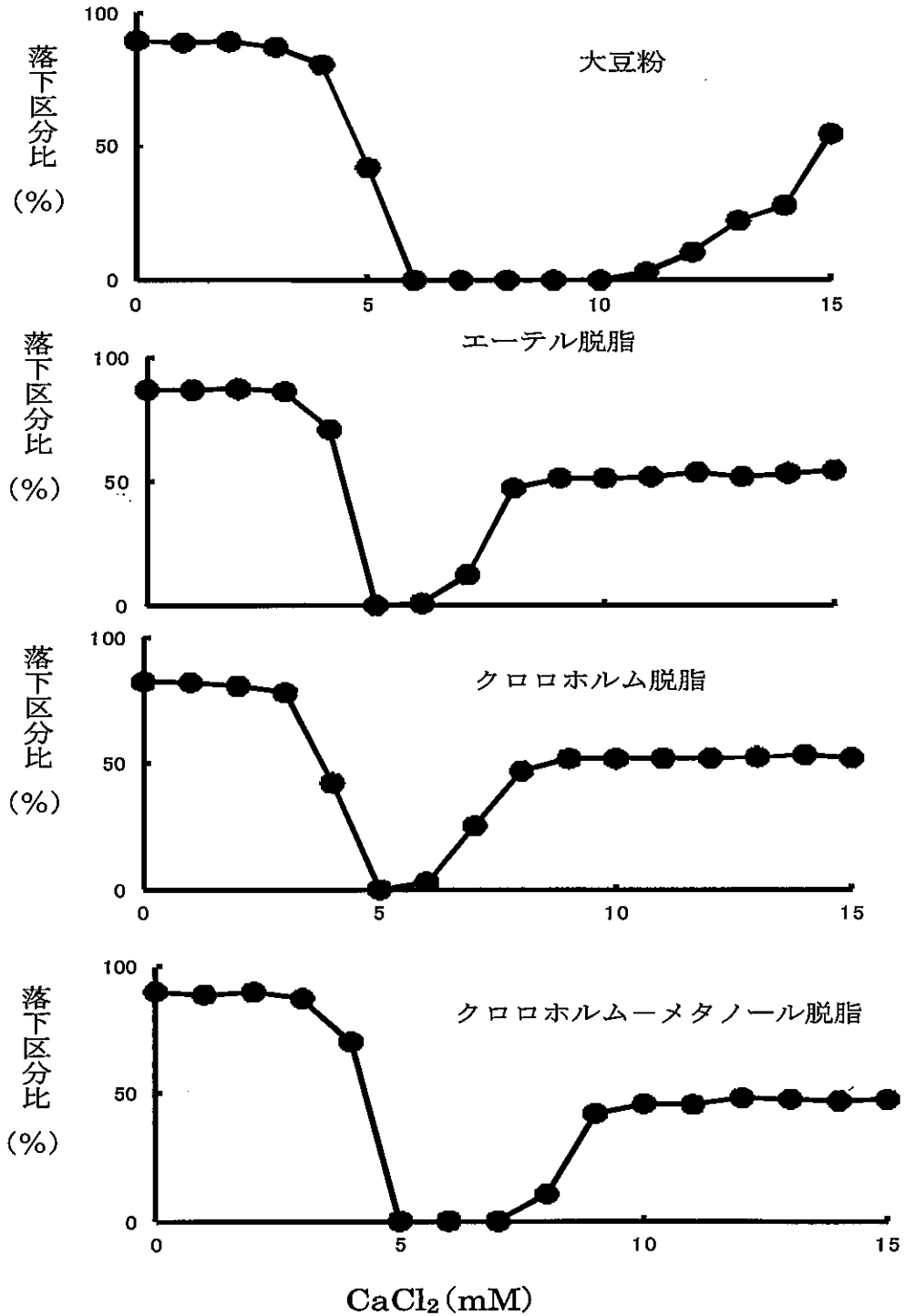


図1. 窒素濃度0.6%豆乳のCa凝固性

乳化による粘性の増加などの物理的な作用が考えられ、形成されたゲルの物性に影響していると思われた。また、脂質の有無による差が、0.6%での凝集状態の落下区分比に認められたこと、0.3%の落下区分の窒素濃度に差が認められなかったことから、脂質は、乳化物として、凝集タンパクに取り込まれている可能性が高いと

思われた。

また、クロロホルム-メタノール脱脂豆乳については、著しい凝固性の変化が見られたが、この点については、大豆タンパク質のアルコール変性の観点から、その利用法も含め、今後、検討が必要と思われた。

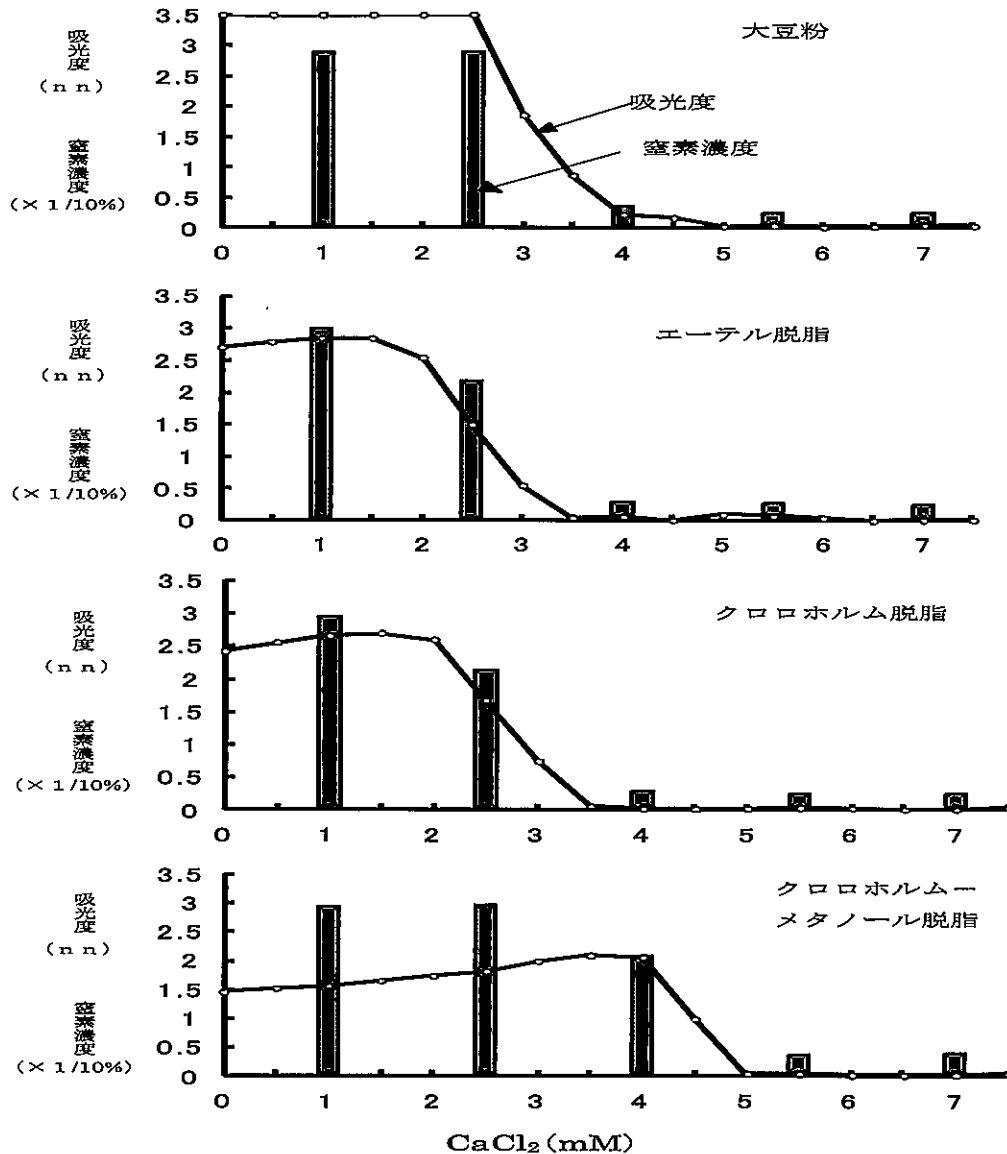


図2 窒素濃度0.3%豆乳のCa凝集性

要約

1. 豆乳のCa凝固においては、Caと脂質には、リン脂質とのキレート形成などの顕著な化学的相互作用は、認められなかった。
2. 豆乳の脂質は乳化による粘性の増加などの物理的な作用が考えられ、形成されたゲルの物性に影響していると思われる。
3. クロロホルム-メタノール脱脂豆乳の凝固性の変化は、メタノールによる大豆タンパク質の変性によるものと思われる。

謝辞

試料提供や試作に御協力いただいた富山県豆腐商工組合の皆様にご心から謝辞を表します。

文献

- 1) Yoshihisa Nakagawa, Masaki Kashima, Effect of Storage Temperature on Tofu-Processing Property and Phytic Acid in Soybean, Bull. of Toyama Food Res. Inst., 49-14 (2001) .

県内産農産物の植物ステロールの含量と組成について

鹿島 真樹、中川 義久

(2013年1月21日受理)

キーワード：県内産農産物、植物ステロール、含量、組成

植物ステロールはフィトステロール (phytosterol) ともいい、植物中に含まれるステロールの総称である。植物中では遊離あるいは脂肪酸エステルとして存在しており、植物の細胞膜の構成成分となっている。植物ステロールはその機能が注目され古くから研究されてきており^{1)~3)}、近年では特定保健用食品の関与成分にもなり、「コレステロールの吸収を抑える」という表示で食用油、マーガリン等に利用されている。

個々の農産物についての植物ステロールに関する調査・研究は、米の組成については坂田らの報告⁴⁾、穀類・いも類・種実類・豆類の組成については岡らの報告⁵⁾、ヒエ及びアワ種子中の組成については高津戸らの報告⁶⁾、野菜類の組成については岡らの報告⁷⁾、山菜については高津戸らの報告⁸⁾、果実・きのこ類・海藻類・茶・コーヒー・ココア類の組成については岡らの報告⁹⁾がある。しかし、成分表のような網羅的に様々な食品中に含まれる植物ステロールについて取り纏めたものは、茨城県衛生研究所の平成15、16年度地域保健推進特別事業「高脂血症の一次予防を目的とした食品中植物ステロールの定量と茨城県民における摂取量・地域特性の評価」¹⁾ だけである。

今回、富山県産農産物について、機能性成分として注目されている植物ステロールの含量と組成を明らかにしたので報告する。

試料及び実験方法

1. 試料及び試料の調製

試料は、平成17年度～19年度に富山県内で栽培・収穫された農産物を主に2ヵ年にわたりサンプリングした。それぞれの試料は通常の食生活で廃棄される部分を除き、スピードカッター等を用いて細断し、分析に供試した。

- (1) 穀類：米（コシヒカリ、てんたかくの玄米と精白米）、大麦（ファイバースノウの玄麦と精白麦）、そば、いなきびを用いた。
- (2) いも類：さといも（大和）を用いた。
- (3) 豆類：大豆（エンレイ、オオツル、丹波黒）を用いた。
- (4) 種実類：ぎんなん（久寿）を用いた。
- (5) 野菜類：宿根そば葉、ふじまめ（芭蕉成ふじまめ）、ほうきぎ、ぎょうじゃんにんにく、たけのこ、ねぎ（吉蔵、夏扇4号）、かぼちゃ（黒海、伯爵）、入善ジャンボ西瓜、早生大かぶ、赤かぶ（あかくら）を用いた。
- (6) 果実類：日本なし（幸水、豊水）、りんご（ふじ）、ぶどう（巨峰、ロザリオビアンコ）、かき（水島柿、三社柿、富山干柿）、うめ（稲積梅）、ゆずを用いた。

2. 試験方法

- (1) 水分：水分は品目ごとに「五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説¹⁰⁾」に準じて測定した。
- (2) 植物ステロール：植物ステロールは、「新・食品分析法¹¹⁾」に準じて試料の抽出操作及びガスクロマトグラフの条件を設定し、測

定した。

実験結果及び考察

1. 穀類の植物ステロール含量と組成

穀類の植物ステロール含量と組成を表1に示した。てんたかく玄米の含量は66mg/100gと56mg/100gであり、年度間に差があったが、てんたかく精白米の含量は年度間に差がなかった。一方、コシヒカリでは、玄米及び精白米とも植物ステロール含量は年度間に差はないものと考えられた。植物ステロールの組成についても、 β -シトステロールが6割近くを占めており、このことは品種に関わらず玄米・白米とも同様の傾向であった。なお、植物ステロールの含量は、品種に関わらず玄米に対して精白米は大体1/3程度であった。

大麦の玄麦の含量は年度間でほとんど差がなかったのに対し、精白麦においては含量に

差が生じており搗精による影響と考えられた。植物ステロールの組成については、玄麦及び精白麦では、いずれも β -シトステロールが6~7割を占めていたが、玄麦ではステグマステロールが数パーセント程度含まれていたのに対し、精白麦ではステグマステロールが検出されなかった。植物ステロールの含量は、玄麦に対して精白麦では大体1/3程度であった。

そばは、含量が60mg/100gと75mg/100gであり年度間に差が見られ、その組成については β -シトステロールが8割~9割近くを占めており、この組成割合は茨城県の結果¹⁾や岡らの報告⁵⁾と類似していた。しかし、含量については、茨城県で調査されたそばの含量が110mg/100gと高く今回の結果とは異なっていたので、品種等の違いが要因として考えられた。

いなきびは、含量の年度による差はなく、

表1 穀類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g			合計	備考
						カンパステロール	ステグマステロール	β -シトステロール		
H17米 (てんたかく)	玄米	2005/9/9	—	0	15.0	16.6	11.7	37.8	66.1	
						25.1	17.7	57.2	100.0	
H18米 (てんたかく)	玄米	2006/9/22	—	0	13.8	13.3	10.3	32.4	56.0	
						23.8	18.3	57.9	100.0	
H17米 (コシヒカリ)	玄米	2005/9/16	—	0	14.2	12.8	9.9	32.2	54.9	
						23.3	18.0	58.7	100.0	
H18米 (コシヒカリ)	玄米	2006/10/6	—	0	14.5	12.2	8.9	29.9	51.0	
						23.9	17.5	58.6	100.0	
H19米 (コシヒカリ)	玄米	2007/11/2	—	0	13.1	13.9	11.3	32.0	57.2	
						24.3	19.8	55.9	100.0	
H17米 (てんたかく)	精白米	2005/9/9	—	0	14.1	3.5	4.5	11.2	19.2	歩留約91%
						18.2	23.4	58.4	100.0	
H18米 (てんたかく)	精白米	2006/9/22	—	0	14.2	3.5	3.8	12.4	19.7	歩留約91%
						17.8	19.3	62.9	100.0	
H17米 (コシヒカリ)	精白米	2005/9/16	—	0	13.8	4.3	4.8	14.3	23.4	歩留約91%
						18.4	20.5	61.1	100.0	
H18米 (コシヒカリ)	精白米	2006/10/6	—	0	14.7	3.5	3.6	11.0	18.1	歩留約91%
						19.3	19.9	60.8	100.0	
H17大麦 (ファイバースノウ)	玄麦	2005/7/27	—	0	17.4	17.0	6.1	42.0	65.1	
						26.1	9.4	64.5	100.0	
H18大麦 (ファイバースノウ)	玄麦	2006/7/26	—	0	16.8	15.3	4.8	43.4	63.5	
						24.1	7.6	68.3	100.0	
H17大麦 (ファイバースノウ)	精白麦	2005/7/27	—	0	17.0	3.7	0.0	12.8	16.5	歩留約56%
						22.4	0.0	77.6	100.0	
H18大麦 (ファイバースノウ)	精白麦	2006/7/26	—	0	15.4	6.6	0.0	20.9	27.5	歩留約56%
						24.0	0.0	76.0	100.0	
H17そば	粉	2005/11/7	—	0	14.5	7.4	2.3	65.8	75.5	
						9.8	3.0	87.2	100.0	
H18そば	粉	2006/10/23	—	0	14.0	6.8	0.0	53.4	60.2	
						11.3	0.0	88.7	100.0	
H17いなきび	精白粒	2005/11/7	—	0	11.5	2.7	2.0	13.3	18.0	
						15.0	11.1	73.9	100.0	
H18いなきび	精白粒	2006/10/11	—	0	11.8	3.4	0.0	13.8	17.2	
						19.8	0.0	80.2	100.0	

その組成についても β -シトステロールが7～8割を占めていた。

2. いも類の植物ステロール含量と組成

いも類の植物ステロール含量と組成を表2に示した。含量は年度間による差がなく、その組成については β -シトステロールが6割程度、その他をスチグマステロールとカンベステロールが占めており、年度間でほぼ変化がなかった。しかし、含量については、茨城県の結果¹⁾では58mg/100gであったのに対して、今回の結果の9mg/100g程度とはかなり異なっており、調査に用いたサトイモの品種等の違いが要因として考えられた。

3. 豆類の植物ステロール含量と組成

豆類の植物ステロール含量と組成を表3に示した。

エンレイについては、含量が42mg/100gと50mg/100gであり年度間で差がなく、また、その組成については β -シトステロールが5割程度あり、残りの5割はカンベステロールとスチグマステロールが同等の割合を占めていた。

オオツルでは、含量が45mg/100gと75mg/100gでありエンレイに比べると、年度間で差

が見られた。その組成については、エンレイと同様であり β -シトステロールが約5割、カンベステロールとスチグマステロールで残りの5割を占めていた。

丹波黒では、含量が56mg/100gと75mg/100gであり年度間でやや差が見られ、その組成についてはエンレイやオオツルと同様で β -シトステロールが約5割、カンベステロールとスチグマステロールを合計して5割程度であった。

この3品種の結果は、茨城県の結果¹⁾で大豆の含量が56mg/100gとほぼ一致しており、その組成については、茨城県の結果と今回の調査した3品種は、ほぼ同様の組成割合であり、品種による差があまりないことが分かった。

4. 種実類の植物ステロール含量と組成

種実類の植物ステロール含量と組成を表4に示した。

ぎんなんは、総量が3mg/100gと7mg/100gであり含量は少なく、年度間でわずかな差があった。組成については、 β -シトステロールがほとんどを占めており、残りをカンベステロールが年度によって検出される場合があ

表2 いも類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g 下段:組成%			合計	備考
						カンベステロール	スチグマステロール	β -シトステロール		
H17さといも (大和)	球莖、生	2005/10/5	65.5	23.8*	86.1	1.6	2.1	5.2	8.9	*表層
						18.0	23.6	58.4	100.0	
H18さといも (大和)	球莖、生	2006/9/25	65.7	14.5*	83.7	1.8	1.8	5.0	8.6	*表層
						20.9	20.9	58.1	100.0	

表3 豆類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g 下段:組成%			合計	備考
						カンベステロール	スチグマステロール	β -シトステロール		
H18大豆 (エンレイ)	全粒	2006/12/5	—	0	11.3	9.0	10.4	22.2	41.6	
						21.6	25.0	53.4	100.0	
H19大豆 (エンレイ)	全粒	2007/12/27	—	0	12.0	12.6	14.2	23.0	49.8	
						25.3	28.5	46.2	100.0	
H18大豆 (オオツル)	全粒	2006/12/27	—	0	12.0	11.2	9.6	24.0	44.8	
						25.0	21.4	53.6	100.0	
H19大豆 (オオツル)	全粒	2007/12/27	—	0	12.0	17.7	19.2	37.7	74.6	
						23.7	25.7	50.5	100.0	
H18大豆 (丹波黒)	全粒	2007/1/22	—	0	10.4	15.4	10.7	30.0	56.1	
						27.5	19.1	53.5	100.0	
H19大豆 (丹波黒)	全粒	2007/12/27	—	0	18.2	19.8	18.2	36.6	74.6	
						26.5	24.4	49.1	100.0	

った。

5. 野菜類の植物ステロール含量と組成

野菜類の植物ステロール含量と組成を表5に示した。

宿根そばは、含量が23mg/100gと42mg/100gであり年度により差が見られたが、表5は

可食部100gあたりの含量で示している。これを乾物100gあたりで含量を比較すると平成17年度の8月に採取したものは217mg/乾物100g、9月に採取したものは200mg/乾物100g、平成18年度に採取したものは244mg/乾物100gと、年度によりそれほど大きな差はなか

表4 種実類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g 下段:組成%			合計	備考
						カンパステロール	ステリグマステロール	β-シトステロール		
H17ぎんなん (久寿)	可食部	2005/10/13	3.4	23.4*	56.7	0.0	0.0	3.3	3.3	*殻、薄皮
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H18ぎんなん (久寿)	可食部	2006/10/13	2.7	23.7*	55.6	2.0	0.0	4.9	6.9	*殻、薄皮
						29.0	0.0	71.0	100.0	

表5 野菜類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g 下段:組成%			合計	備考
						カンパステロール	ステリグマステロール	β-シトステロール		
H17宿根そば	葉	2005/8/4		0	80.7	1.8	3.4	36.8	42.0	
						4.3	8.1	87.6	100.0	
H17宿根そば	葉	2005/9/28		0	88.6	1.8	2.2	18.8	22.8	
						7.9	9.6	82.5	100.0	
H18宿根そば	葉	2006/8/30		0	88.8	3.3	3.6	20.5	27.4	
						12.0	13.1	74.8	100.0	
H17ふじまめ (芭蕉成ふじまめ)	若さや	2005/8/4	4.5	0	89.2	0.0	3.3	8.3	11.6	
						0.0	28.4	71.6	100.0	
H18ふじまめ (芭蕉成ふじまめ)	若さや	2006/8/17	4.7	0	88.2	0.0	3.6	7.4	11.0	
						0.0	32.7	67.3	100.0	
H17ほうきぎ	可食部	2005/11/14		0	80.6	5.0	2.9	14.7	22.6	
						22.1	12.8	65.0	100.0	
H18ほうきぎ	可食部	2006/11/10		0	80.4	5.3	3.5	13.6	22.4	
						23.7	15.6	60.7	100.0	
H18ぎょうじゃにん にく	可食部	2006/5/26		16.1*	91.0	0.0	0.0	5.0	5.0	*茎
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H19ぎょうじゃにん にく	可食部	2007/5/2		24.9*	91.2	0.0	0.0	5.2	5.2	*茎
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H18たけのこ	可食部	2006/5/8	655	59.1*	91.9	4.0	2.4	23.5	29.9	*竹皮、基部
						13.4	8.0	78.6	100.0	
H19たけのこ	可食部	2007/4/26	1,221	24.9*	91.9	3.8	2.6	25.8	32.2	*竹皮、基部
						11.8	8.1	80.1	100.0	
H18ねぎ (吉蔵)	可食部	2006/10/5	145	4.1*	93.8	0.0	0.0	7.3	7.3	*根元、緑葉部
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H19ねぎ (夏扇4号)	可食部	2007/11/1	166	19.5*	93.6	0.0	0.0	4.6	4.6	*根元、緑葉部
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H17かぼちゃ (黒海)	可食部	2005/8/4	1,600	4.1*	80.4	0.0	0.0	3.2	3.2	*わた、種子、 両端
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H18かぼちゃ (黒海)	可食部	2006/8/3	2,100	13.7*	73.2	0.0	0.0	3.8	3.8	*わた、種子、 両端
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H17かぼちゃ (伯爵)	可食部	2005/9/6	2,400	11.2*	80.1	0.0	0.0	3.2	3.2	*わた、種子、 両端
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H18かぼちゃ (伯爵)	可食部	2006/8/30	2,100	15.3*	71.6	0.0	0.0	2.8	2.8	*わた、種子、 両端
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H17入善ジャンボ 西瓜	可食部	2005/8/4	17,400	25.6*	92.7	0.0	0.0	0.4	0.4	*果皮、種子
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H18入善ジャンボ 西瓜	可食部	2006/8/3	13,900	33.9*	91.1	0.0	0.0	0.4	0.4	*果皮、種子
						0.0	0.0	100.0	100.0	
H17早生大かぶ	根部	2005/10/31	608	0	94.0	1.8	0.0	8.3	10.1	
						17.8	0.0	82.2	100.0	
H18早生大かぶ	根部	2006/11/6	1,128	12*	93.6	1.8	0.0	6.7	8.5	*葉柄基部
						21.2	0.0	78.8	100.0	
H19早生大かぶ	根部	2007/12/26	1,892	0	94.5	1.1	0.0	5.6	6.7	
						16.4	0.0	83.6	100.0	
H17赤かぶ (あかくら)	根部	2005/11/1	434	0	93.9	1.4	0.0	6.3	7.7	
						18.2	0.0	81.8	100.0	
H19赤かぶ (あかくら)	根部	2007/11/2	589	0	94.1	1.1	0.0	5.0	6.1	
						18.0	0.0	82.0	100.0	

った。また、組成については、 β -シトステロールが7割～8割とかなりを占めていた。

ふじまめは年度による差はなく、組成については β -シトステロールが7割程度の割合と多く、残りはスチグマステロールのみであり、カンペステロールは検出されなかった。

ほうきぎは含量が22mg/100g程度であり、年度による差はなかった。組成は β -シトステロールが6割程度含まれており、残りはスチグマステロールとカンペステロールであった。

ぎょうじゃにんにくは、含量が5mg/100g程度であり、年度による差はなかった。組成としては、 β -シトステロールのみしか含まれていなかった。

たけのこは、含量が30mg/100g程度であり、年度による差はなかった。組成は β -シトステロールが8割程度を占めており、その他はカンペステロールとスチグマステロールが検出された。

ねぎは、県内でいろいろな品種が栽培されており、年度によって分析した品種が異なっていたが、含量は吉蔵で7mg/100g、夏扇4号は5mg/100gであり、その組成については β -シトステロールのみしか含まれていなかった。茨城県の結果¹⁾ではねぎが4mg/100g、赤ねぎも4mg/100gであり、県内産のねぎと大差なかった。

かぼちゃは黒海と伯爵について分析したが、含量は黒海と伯爵いずれの品種においても年度間の差はなかった。組成についても品種に関係なく β -シトステロールのみしか含まれていなかった。

入善ジャンボ西瓜にはわずかしが含まれておらず、年度間の差はなく、また、組成については β -シトステロールのみしか含まれていなかった。

かぶ類は、早生大かぶと赤かぶ(あかくら)について分析したが、含量は早生大かぶでは10mg/100g、9mg/100gと7mg/100gであり年度間で大差はなかった。同様に赤かぶは、8mg/100gと6mg/100gであり年度間で大差

はなかった。組成は品種に関わりなく β -シトステロールが8割程度占めており、その他はカンペステロールのみしか検出されなかった。また、茨城県の結果¹⁾ではかぶが4mg/100gであったので、品種等により含量に違いがあることが考えられた。組成については全く同様の結果であった。

6. 果実類の植物ステロール含量と組成

果実類の植物ステロール含量と組成を表6に示した。

なしは幸水と豊水について分析したが、幸水の含量は7mg/100gと6mg/100g、豊水の含量は6mg/100gと7mg/100gであり、品種に関わらず更に年度による差もなかった。組成は、品種に関係なく β -シトステロールのみであった。茨城県の結果¹⁾では、なし(新高)が6mg/100gであったので、品種は違っても含量はほとんど変わらず、その組成も β -シトステロールのみで茨城県の結果¹⁾や岡らの報告²⁾と全く同じであった。

りんごはふじを調査したが、含量は7mg/100gと5mg/100gであり、年度による大差はなかった。その組成は β -シトステロールのみであった。

ぶどうは巨峰とロザリオピアンコについて分析したが、巨峰では5mg/100g程度と年度間で差がなかったのに対し、ロザリオピアンコでは7mg/100gと4mg/100gであり、年度間でわずかな差が見られた。組成は品種に関わりなく、 β -シトステロールのみであった。

かきは水島柿、三社柿、富山干柿を調べたが、含量は水島柿では7mg/100gと8mg/100g、三社柿は4mg/100gと6mg/100g、富山干柿は13mg/100gと12mg/100gであり、いずれも年度間の差はほとんどなかった。その組成は、水島柿、三社柿、富山干柿のいずれも β -シトステロールが8割を占め、スチグマステロールが残りの2割を占め、カンペステロールは検出されなかった。中でも富山干柿では、含量が高くなっていたが、これは原料となる三社柿からの干柿製造での水分の蒸発で

の濃縮による増加と考えられた。

うめは稲積梅を調査したが、含量は9 mg/100 g程度であり年度間の差はなかった。その組成はほとんどが β -シトステロールで、わずかにカンベステロールが含まれているのみであった。

ゆずは果皮と果汁に分けて植物ステロール組成を調査した。果皮は含量が14mg/100 gと11mg/100 gであり、年度により大差がなかった。組成については β -シトステロールが7割程度を占め、残りをスチグマステロールとカンベステロールで占めていた。茨城県の結果¹⁾ではゆず(皮のみ)が6 mg/100 gであり、今回調査したものより低かったため、品種等による違いが要因と考えられた。また、果汁

の含量は9 mg/100 gと7 mg/100 gであり、年度により大差はなかった。組成は β -シトステロールが8割~9割程度であり、それ以外はカンベステロールで占められていた。

要 約

富山県内産農産物、①穀類(コシヒカリ、てんたかく、大麦、そば、いなきび)、②いも類(さといも)、③豆類(エンレイ、オオツル、丹波黒)、④種実類(ぎんなん)、⑤野菜類(宿根そば、ふじまめ、ほうきぎ、ぎょうじゃんにく、たけのこ、ねぎ、かぼちゃ、入善ジャンボ西瓜、早生大かぶ、赤かぶ)、⑥果実類(なし(幸水、豊水)、りんご(ふじ)、ぶどう(巨峰、

表6 果実類の植物ステロール含量と組成

品目	分類	試料採取日 (年/月/日)	平均重量 (g/個)	廃棄率 (%)	水分 (g/100g)	上段:含量mg/100g 下段:組成%			合計	備考
						カンベステロール	スチグマステロール	β -シトステロール		
H17なし (幸水)	可食部	2005/8/19	329	24.1*	87.3	0.0	0.0	7.2	7.2	*果皮、果しん部
H18なし (幸水)	可食部	2006/8/24	331	21.4*	86.8	0.0	0.0	6.0	6.0	*果皮、果しん部
H17なし (豊水)	可食部	2005/9/9	494	21.7*	86.9	0.0	0.0	5.8	5.8	*果皮、果しん部
H18なし (豊水)	可食部	2006/9/11	489	25.7*	86.9	0.0	0.0	6.7	6.7	*果皮、果しん部
H17りんご (ふじ)	可食部	2005/11/29	455	18.7*	85.4	0.0	0.0	6.5	6.5	*果皮、果しん部
H18りんご (ふじ)	可食部	2006/11/30	376	17.1*	85.2	0.0	0.0	4.6	4.6	*果皮、果しん部
H17ぶどう (巨峰)	可食部	2005/9/9	324	21.9*	83.1	0.0	0.0	4.5	4.5	*果皮、種子
H18ぶどう (巨峰)	可食部	2006/9/4	489	17.2*	80.7	0.0	0.0	5.3	5.3	*果皮、種子
H17ぶどう (ロザリオビアン)	可食部	2005/9/12	666	13.1*	83.2	0.0	0.0	6.5	6.5	*果皮、種子
H18ぶどう (ロザリオビアン)	可食部	2006/9/14	646	11.9*	82.7	0.0	0.0	4.3	4.3	*果皮、種子
H17かき (水島)	可食部	2005/10/13	138	25.1*	84.6	0.0	1.1	5.6	6.7	*果皮、種子、へた
H18かき (水島)	可食部	2006/10/13	160	21.4*	84.0	0.0	1.2	6.4	7.6	*果皮、種子、へた
H17かき (三社)	可食部	2005/11/17	327	18.4*	82.0	0.0	1.1	4.4	5.5	*果皮、種子、へた
H18かき (三社)	可食部	2006/11/8	286	14.2*	81.6	0.0	1.0	3.4	4.4	*果皮、種子、へた
H17富山干柿	可食部	2005/12/27	51.9	11.3*	31.4	0.0	2.1	10.4	12.5	*種子、へた
H18富山干柿	可食部	2006/12/18	58.5	8.4*	29.7	0.0	2.1	10.3	12.4	*種子、へた
H17うめ (稲積)	未熟果	2005/6/13	17.8	17.2*	90.5	0.4	0.0	8.1	8.5	*核
H19うめ (稲積)	未熟果	2007/6/11	18.0	18.7*	91.0	4.7	0.0	95.3	100.0	*核
H17ゆず	果皮	2005/12/13	147 (全果)	0	83.5	1.9	1.6	10.7	14.2	果皮42.5%、果汁26.8%
H19ゆず	果皮	2007/11/20	125 (全果)	0	82.1	13.4	11.3	75.4	100.0	果皮38.4%、果汁25.7%
H17ゆず	果汁	2005/12/13	147 (全果)	0	90.6	1.8	1.4	7.7	10.9	果皮42.5%、果汁26.8%
H19ゆず	果汁	2007/11/20	125 (全果)	0	91.1	16.3	12.9	70.8	100.0	果皮38.4%、果汁25.7%
						1.5	0.0	7.2	8.7	果皮42.5%、果汁26.8%
						17.2	0.0	82.8	100.0	果皮38.4%、果汁25.7%
						0.8	0.0	6.4	7.2	果皮38.4%、果汁25.7%
						11.1	0.0	88.9	100.0	

ロザリオピアンコ)、かき(水島柿、三社柿、富山干柿)、うめ、ゆずの植物ステロール含量とその組成を明らかにした。

文 献

- 1) Wetstrate J. A., Meijer G. W., Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **52**, 334-343 (1998).
- 2) Pelltier X., Belbraöuet S., Mirabel D., Mordret F., Perrin J. L., Pages X., Debry G., *Ann. Nutr. Metab.*, **39**, 291-295 (1998).
- 3) Lin X., Ma L., Racette S. B., Andrson Spearie C. L., Ostlund R. E. Jr, Phytosterol glycoside reduce cholesterol absorption in humans. *AM J. Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **296**, 931-935 (2009).
- 4) 坂田澄雄, 間野康男, 藤野康彦, 米の中性脂質とステロールの組成, *栄養と食糧*, **26**, 75-77 (1973).
- 5) 岡芳子, 桐山修八, 吉田昭, 穀類、いも類、種実類、豆類のステロール組成, *栄養と食糧*, **25**, 543-549 (1972).
- 6) 高津戸秀, 川島崇弘, ヒエおよびアワ種子に含まれる植物ステロールの組成, *油化学*, **47**, 187-190 (1998).
- 7) 岡芳子, 桐山修八, 吉田昭, 野菜のステロール組成, *栄養と食糧*, **26**, 121-128 (1973).
- 8) 高津戸秀, 阿部弘行, 山菜に含まれる植物ステロール組成, *上越教育大学研究紀要*, **13**, 391-397 (1994).
- 9) 岡芳子, 桐山修八, 吉田昭, 果実類、きのこ類、海藻類、茶、コーヒーおよびココア類のステロール組成, *栄養と食糧*, **26**, 317-327 (1973).
- 10) 五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説(財)日本食品分析センター編, 中央法規(2001).

- 11) 新・食品分析法(日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編), 光琳(1996).

引用URL

- i) <http://pref.ibaraki.jp/bukyoku/hoken/eiseik/home-page/topics/topic6/topic6.html>



三社柿の熟期の違いが生柿及び干柿の品質・機能性成分等に及ぼす影響について

鹿島 真樹、中川 義久

(2013年1月21日受理)

キーワード：三社柿、熟期、品質、機能性成分

富山県は独特の地形と豊かな自然に恵まれていることから、様々な特産物がある。これら特産物は、故郷の味として広く県民に親しまれるだけでなく、最近では県外に紹介される機会も多くなってきている。中でも三社柿を用いた富山干柿は、果肉が柔らかく、赤みを帯びた餡色で、品質が良いことから高い評価を受けており、贈答品として年間約593万個(平成24年度)が県内だけでなく県外へも出荷されている。

近年、消費者の健康への関心の高まりから、食品の栄養成分や特に機能性成分について注目されている。干柿にもカロテノイドやアミノ酸等の機能性成分が含まれており、カロテノイドについては近らの報告¹⁾、アミノ酸については小宮山らの報告²⁾がある。しかし、富山干柿については、カロテノイド含量やアミノ酸含量、更には製造中にどのように変化するかなどは、ほとんど調査されていない。そこで三社柿を用いて干柿を試作し、カロテノイド含量やアミノ酸含量等がどのように変化するかを調査した。

また、富山干柿の製造現場では、適熟果に未熟果が混入した場合に生じる渋のこりや乾燥中に生じる黒変などが問題となり、富山干柿の品質低下の一因となっている。干柿製造時に用いる生柿の熟期の違いによる干柿の品質については、松井ら³⁾や平ら⁴⁾の報告がある。また、富山干柿の変色については林の報告^{5)~9)}があるが、渋のこり等まで調べられたものはない。

本研究では、原料の三社柿の熟期の違いが干柿の品質・機能性成分等に与える影響を併せて調査した。

実験方法

1. 試料

園芸研究所果樹研究センターで栽培され、平成20年11月10日に収穫した三社柿を試料として用いた。熟度は、カラーチャート“カキ”用(農林水産省果樹試験場, 1975)を用いて果底部の色で適熟果(カラーチャート値3.5~4.0)、やや未熟果(カラーチャート値3.0~3.5)、未熟果(カラーチャート値2.5~3.0)に分けた。用いた三社柿の重量は平均260g程度であり、この重量は本江らの報告¹⁰⁾とほぼ一致していた。熟度別の生柿の外観は写真1のとおりであった。

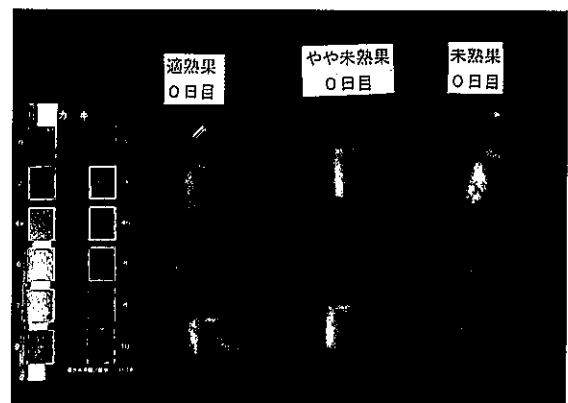


写真1 原料(三社柿)の熟度別の外観

2. 乾燥方法

熟度(適熟果、やや未熟果、未熟果)を分けた生柿を用いて、「富山県干柿機械乾燥技術指針¹¹⁾ 三社柿機械乾燥マニュアル」の温度・湿度の乾燥条件に準じて干柿製造のモデル試

験を、表1の条件で実施した。なお、乾燥にはタバイエスベック製恒温恒湿機 (PL-2S、PR-2F) を用いた。また、剥皮した生柿は乾燥前に箱 (64cm×60cm×88cm) 内で硫黄 1 g を15分間燃焼し硫黄くん蒸し、用いた。

3. 乾燥工程中のサンプリング方法

乾燥工程中のサンプリングは、生柿(100%)、乾燥歩留約65%、約45%、干柿(約30%)の際に行った。なお、サンプリングは各工程で1試験区5個ずつ行った。

4. 表面色

島津製作所製分光色彩計 (CLR-7100F) を用いて、φ10mmの測定台で剥皮した生柿の赤道部と干柿の赤道部の表面色を測定した。

5. 果実硬度

果実硬度計 (木屋製作所製、円筒型プランジャー使用) は、1果について剥皮後の生柿の果頂部と赤道部を2箇所ずつ測定した。

6. 水分

生柿及び乾燥中の柿の水分は、常圧105℃で測定した。

7. ポリフェノール

生柿及び乾燥中の柿のポリフェノールは、平らの方法¹²⁾ に準じて可溶性ポリフェノール (80%メタノール抽出画分) を測定した。

8. カロテノイド

生柿及び乾燥中の柿のカロテノイド (ルテイン、ゼアキサンチン、β-クリプトキサンチン、α-カロテン、β-カロテン、リコピン)

は、Aizawa らの方法¹³⁾ に準じて測定した。なお、総カロテノイドは、これらルテイン、ゼアキサンチン、β-クリプトキサンチン、α-カロテン、β-カロテン、リコピンの合計値とした。

9. エタノール、アセトアルデヒド

生柿及び乾燥中の柿のエタノールとアセトアルデヒドは、Sugiura らの方法¹⁴⁾ に準じて測定した。

10. 糖組成 (全糖)

生柿及び乾燥中の柿の糖組成は、75%エタノール溶液で加熱還流抽出を行い、HPLC法¹⁵⁾ により測定した。フルクトース、グルコース、シュクロースの合計を全糖とした。

11. 遊離アミノ酸

遊離アミノ酸は75%エタノールで加熱還流抽出した後、減圧乾固し0.02N-塩酸溶液に溶解し、日本電子全自動アミノ酸分析機 JLC-500/V 2 で分析した。

12. 脱渋度合の判定

生柿や乾燥中の柿の赤道部を切断し、切断面に0.5%塩化第2鉄メタノール溶液に浸漬したろ紙を押し当て発色させ、その発色した青色の濃さで脱渋を判定した。

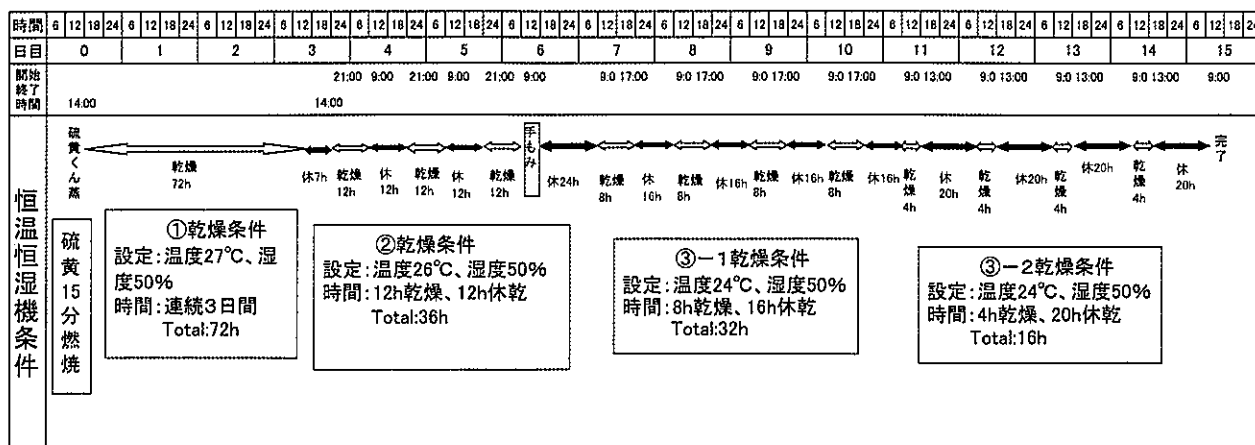
13. 亜硫酸

通気蒸留装置を用いた比色法¹⁶⁾ で測定した。

14. 統計処理

分散分析法 (一元配置法)¹⁷⁾ により検定を行った。

表1 干柿の乾燥条件



実験結果及び考察

1. 原料の三社柿の熟度別の品質・機能性成分等について

生柿をカラーチャート値により選別し、熟度別（適熟果、やや未熟果、未熟果）の品質・成分等を比べた。剥皮後の表面色では、表2よりL*値とb*値では熟度間に差が見られないが、a*値では適熟果に比べ未熟果では有意に低く、未熟果では果肉の赤みが弱い傾向にあった。表2より果実硬度は、赤道部では熟度間で差が認められないが、果頂部の果実硬度は適熟果とやや未熟果に比べ未熟果では有意に硬かった。このことは、大城らの三社柿は果頂部とへた部の熟度に差が生じ果頂部が軟化しやすいという報告¹⁸⁾と一致した傾向を示した。また、表2からポリフェノール含量は、適熟果とやや未熟果に比べ未熟果では有意に多く、本江らの成熟に伴いタンニン含量が低下するという報告¹⁰⁾とほぼ一致していた。

表2 熟度別生柿の表面色、果実硬度、ポリフェノールの比較

熟度	L*値	a*値	b*値	果実硬度 果頂部(kg)	果実硬度 赤道部(kg)	ポリフェノール (mg/100gD.W.)
適熟果	69.7 ^a	12.9 ^a	51.4 ^a	1.06 ^a	1.50 ^a	6.000 ^a
やや未熟果	69.8 ^a	11.3 ^{a,b}	50.5 ^a	1.04 ^a	1.57 ^a	6.000 ^a
未熟果	70.2 ^a	8.4 ^b	47.1 ^a	1.43 ^b	1.68 ^a	6.700 ^b

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

熟度別生柿の各カロテノイド含量の結果を表3に示した。ルテイン、 α -カロテン、 β -カロテンは、熟度による差はなかった。一方、ゼアキサンチン、 β -クリプトキサンチン、リコピン、総カロテノイドの含量は、適熟果と比べ未熟果では有意に低かった。中でも β -クリプトキサンチンでは、適熟果、やや未熟果、未熟果の順にいずれの熟度間においても有意差があった。これらの結果は、新川らの報告¹⁹⁾の富有柿のカロテノイドは10月にはゼアキサンチンと β -クリプトキサンチンが蓄積され、その後11月にリコピンが蓄積される特徴と似

表3 熟度別生柿の各カロテノイド含量の比較

熟度	カロテノイド含量(μ g/100gD.W.)						
	ルテイン	ゼアキサンチン	β -クリプトキサンチン	α -カロテン	β -カロテン	リコピン	総カロテノイド
適熟果	140 ^a	2,180 ^a	3,490 ^a	70 ^a	750 ^a	1,120 ^a	7,760 ^a
やや未熟果	100 ^a	1,870 ^{a,b}	2,860 ^b	40 ^a	820 ^a	500 ^b	5,990 ^b
未熟果	120 ^a	1,570 ^b	2,300 ^b	30 ^a	540 ^a	250 ^b	4,810 ^b

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

ていると考えられた。

生柿の熟度別全糖量は、ここではデータを示さないが熟度に関係なく76 g/100 g程度含まれており、全糖については熟度による差はなかった。

生柿の熟度別の主な遊離アミノ酸の結果を表4に示した。スレオニン(Thr)、グルタミン(Gln)、総アミノ酸含量については、熟度間に差はなかった。一方、アスパラギン酸(Asp)、シトルリン(Cit)、 γ -アミノ酪酸(GABA)、アルギニン(Arg)は、適熟果に比べ未熟果の含量が有意に高かった。小宮山ら²⁾によるとアミノ酸含量は渋ガキの品種間で顕著な差異があり、貯蔵によりアミノ酸の増加する品種と減少する品種があることが報告されている。三社柿の遊離アミノ酸は、適熟果に比べ未熟なものほどアミノ酸含量が高くなる傾向にあることから、三社柿は保存によりアミノ酸が減少する品種と推察された。

表4 熟度別生柿の各アミノ酸含量の比較

熟度	アミノ酸含量(mg/100gD.W.)						
	アスパラギン酸(Asp)	スレオニン(Thr)	グルタミン(Gln)	シトルリン(Cit)	γ -アミノ酪酸(GABA)	アルギニン(Arg)	総7種
適熟果	51 ^a	47 ^a	89 ^a	189 ^a	35 ^a	45 ^a	563 ^a
やや未熟果	65 ^{a,b}	50 ^a	103 ^a	253 ^{a,b}	46 ^a	82 ^{a,b}	705 ^a
未熟果	74 ^b	46 ^a	136 ^a	377 ^b	71 ^b	80 ^b	905 ^a

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

2. 熟度別の干柿乾燥試験について

各熟度の三社柿を用い干柿の乾燥試験を表1の条件で実施し、その乾燥試験中の乾燥歩留を図1に示した。いずれの熟度でも15日間で乾燥歩留が約30%となり乾燥を終了した。なお、乾燥速度についても、熟度の違いによ

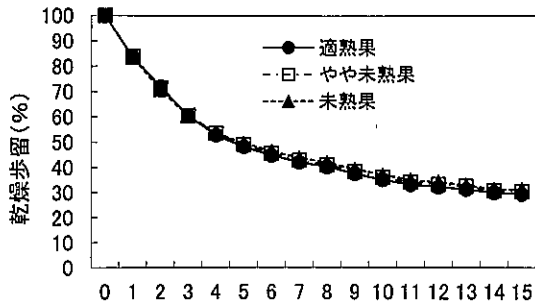


図1 熟度別の乾燥歩留

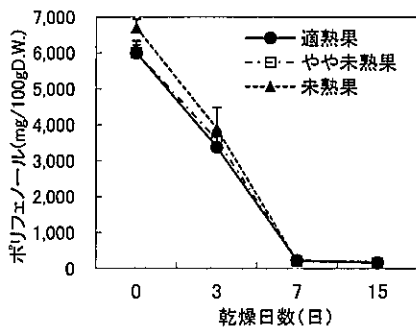


図2 熟度別の乾燥工程中のポリフェノール含量

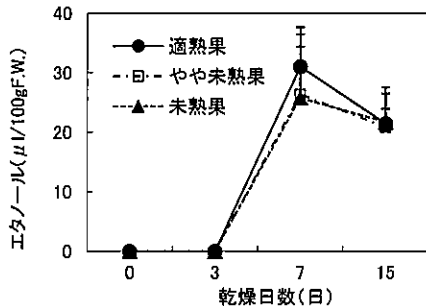


図3 熟度別の乾燥工程中のエタノール含量

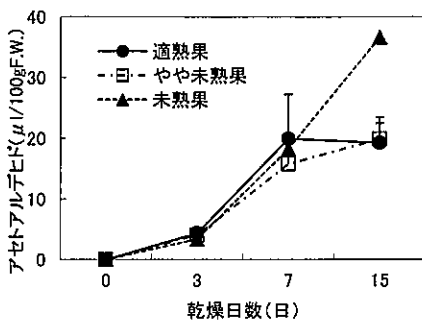


図4 熟度別の乾燥工程中のアセトアルデヒド含量

mg/kg)、亜硫酸の残存については問題はなかった。

熟度別の乾燥工程中のポリフェノール含量の変化を図2に、エタノール含量の変化を図3に、アセトアルデヒド含量の変化を図4に示した。ポリフェノール含量は、乾燥7日目まで大きく減少し、その後横ばい状態で15日目のポリフェノール含量と大きな差はなかった。エタノール含量は、いずれの熟度においても3日目までは検出されなかったが、7日目に20~30 μl/100 gと急激に増加し、15日目には20 μl/100 gとやや減少した。アセトアルデヒド含量は乾燥開始から増加し、未熟果以外は7日目に最大となったが、未熟果は15日目でも増加し続けていた。また、乾燥開始時から脱渋度合を調べたが、乾燥開始7日目で青色の発色がほとんどないことから脱渋が完了していると考えられた(写真2)。

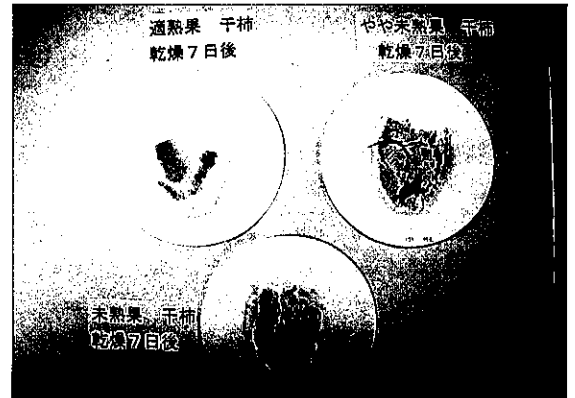


写真2 乾燥7日目の熟度別干柿の脱渋状況

3. 三社柿から製造した干柿の熟度別の品質・機能性成分等について

乾燥試験後の干柿の熟度別表面色とポリフェノールの結果を表5に示した。表面色のL*値、a*値、b*値は、いずれも熟度間に有意な差が見られなかったがb*値については、適熟果に比べ未熟果で高い傾向にあり、未熟果で製造した干柿は外観上黄色っぽいことが観察された。このことは林の等級上の色調はa = b付近にあるのに対し等級下の色調はb値が大きいという報告⁶⁾から、未熟な生柿を原

る差は認められなかった。

乾燥終了時の亜硫酸含量を測定したところ、いずれも亜硫酸は検出されず(検出限界1

表5 熟度別干柿の表面色、ポリフェノール含量の比較

熟度	L*値	a*値	b*値	ポリフェノール (mg/100gD.W.)
適熟果	28.0 ^a	6.6 ^a	14.0 ^a	160 ^a
やや未熟果	30.7 ^a	6.3 ^a	17.8 ^a	161 ^{ab}
未熟果	33.5 ^a	6.9 ^a	21.2 ^a	182 ^b

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

料に用いると干柿のb*値が高くなり、等級が低くなる原因の一つと考えられた。また、ポリフェノール含量は、適熟果及びやや未熟果に比べ未熟果では有意に高かった。この結果は、原料の生柿のポリフェノール含量も適熟果に比べ未熟果で多いことから、ポリフェノールの多い生柿を原料に用いて干柿を製造するとポリフェノール含量が高い干柿ができる可能性が高いことを示していた。干柿のポリフェノール含量が高いと干柿の渋残りに直接影響を与えるかどうかは不明であるが、渋残りのリスクを回避するためにはポリフェノール含量の低い適熟果を原料に用いるのが良いと考えられた。

熟度別干柿の各カロテノイド含量の結果を表6に示した。ゼアキサンチン、β-クリプトキサンチン、α-カロテン、β-カロテンでは熟度による含量の有意差はなかった。一方、ルテイン、リコピン、総カロテノイドの含量は、適熟果に比べ、やや未熟果及び未熟果では有意に低かった。中でもルテインでは、適熟果、やや未熟果、未熟果の順にいずれの熟度間においても有意差があった。生柿のカロテノイド含量と干柿のカロテノイド含量を比較すると、いずれの熟度でも生柿に比べ干柿ではリコピン含量と総カロテノイド含量が増加していることが認められた。中でもリコピンについては生柿及び干柿間での変化は、適熟果では1,120 μg/100 g から3,680 μg/100 g に、やや未熟果では500 μg/100 g から2,230 μg/100 g に、未熟果では250 μg/100 g から1,160 μg/100 g と、いずれも生柿の含量

から3倍から4倍程度に増加していた。また、個々のカロテノイドでは、α-カロテン、β-カロテンは熟度にかかわらず乾燥により増加しなかった。一方、ルテインでは適熟果及びやや未熟果が増加し、ゼアキサンチンでは未熟果のみ増加し、β-クリプトキサンチンではやや未熟果と未熟果で増加した。近らの報告¹⁾では、四ツ溝柿の場合生柿に比べ干柿の全カロテノイド含量が17%減少し、生柿では見られなかったリコピンが干柿で検出されているが、三社柿ではリコピンが生柿でも検出され、干柿にした場合総カロテノイドが増加していることから、干柿製造工程では品種によりカロテノイドの挙動は異なるものと考えられた。

表6 熟度別干柿の各カロテノイド含量の比較

熟度	カロテノイド含量(μg/100gD.W.)						
	ルテイン	ゼアキサンチン	β-クリプトキサンチン	α-カロテン	β-カロテン	リコピン	総カロテノイド
適熟果	220 ^a	2,090 ^a	3,270 ^a	30 ^a	610 ^a	3,680 ^a	9,900 ^a
やや未熟果	190 ^b	1,930 ^a	3,160 ^a	30 ^a	540 ^a	2,230 ^b	8,080 ^b
未熟果	130 ^c	1,900 ^a	3,500 ^a	20 ^a	500 ^a	1,610 ^b	7,660 ^b

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

干柿の熟度別全糖量は、ここではデータを示さないが熟度に関係なく約76 g/100 gであり、生柿と同様に全糖については熟度による差、干柿製造中の変動は認められなかった。

熟度別干柿の主なアミノ酸含量を表7に示した。干柿では熟度によって、Asp、Thr、Gln、Cit、GABA、Arg及び総アミノ酸含量のいずれにおいても、適熟果に比べ未熟果の含量が有意に高かった。生柿のアミノ酸含量

表7 熟度別干柿の各アミノ酸含量の比較

熟度	アミノ酸含量(mg/100gD.W.)						
	アスパラギン酸 (Asp)	スレオニン (Thr)	グルタミン (Gln)	シトルリン (Cit)	γ-アミノ酪酸 (GABA)	アルギニン (Arg)	総アミノ酸
適熟果	18 ^a	19 ^a	11 ^a	68 ^a	35 ^a	20 ^a	258 ^a
やや未熟果	29 ^b	30 ^{ab}	32 ^b	142 ^{ab}	55 ^b	35 ^{ab}	439 ^{ab}
未熟果	40 ^b	31 ^b	53 ^c	270 ^b	70 ^b	51 ^b	639 ^b

* 異符号間で有意差あり(p<0.05)(n=5)

と干柿のアミノ酸含量を比べると、いずれの熟度でも GABA 含量は変化が認められなかった。しかし、GABA 以外の Asp, Thr, Gln, Cit, Arg、総アミノ酸含量は、生柿に比べ干柿が減少していた。特に総アミノ酸含量は、適熟果では563mg/100 g から258mg/100 g に、やや未熟果では705mg/100 g から439mg/100 g に、未熟果では905mg/100 g から639mg/100 g と、いずれも生柿の含量から50%から70%程度に干柿の含量が減少していた。このことは小宮山らの報告²⁾のアミノ酸含量が乾燥工程では漸増の傾向があるということとは異なり、三社柿を用いた干柿製造工程での特徴であると考えられた。

要 約

三社柿をカラーチャートにより果底部の色で熟度別（適熟果、やや未熟果、未熟果）に分け、干柿の試作を行い、生柿と干柿の品質・機能性成分等を調べた。

1. 熟度別の生柿の性状を調査したところ、 a^* 値、果頂部の果実硬度、ポリフェノール、リコピン、総カロテノイド、シトルリン、 γ -アミノ酪酸等に熟度間に有意な差が認められた。
2. 熟度別に分けた生柿を用いて干柿を試作し製造工程中の変化を調査したところ、乾燥速度や脱渋までの日数に原料生柿の熟度による差は見られなかった。
3. 熟度別に試作した干柿では、ポリフェノール、リコピン、総カロテノイド、シトルリン、 γ -アミノ酪酸等に熟度による有意差が認められた。

謝 辞

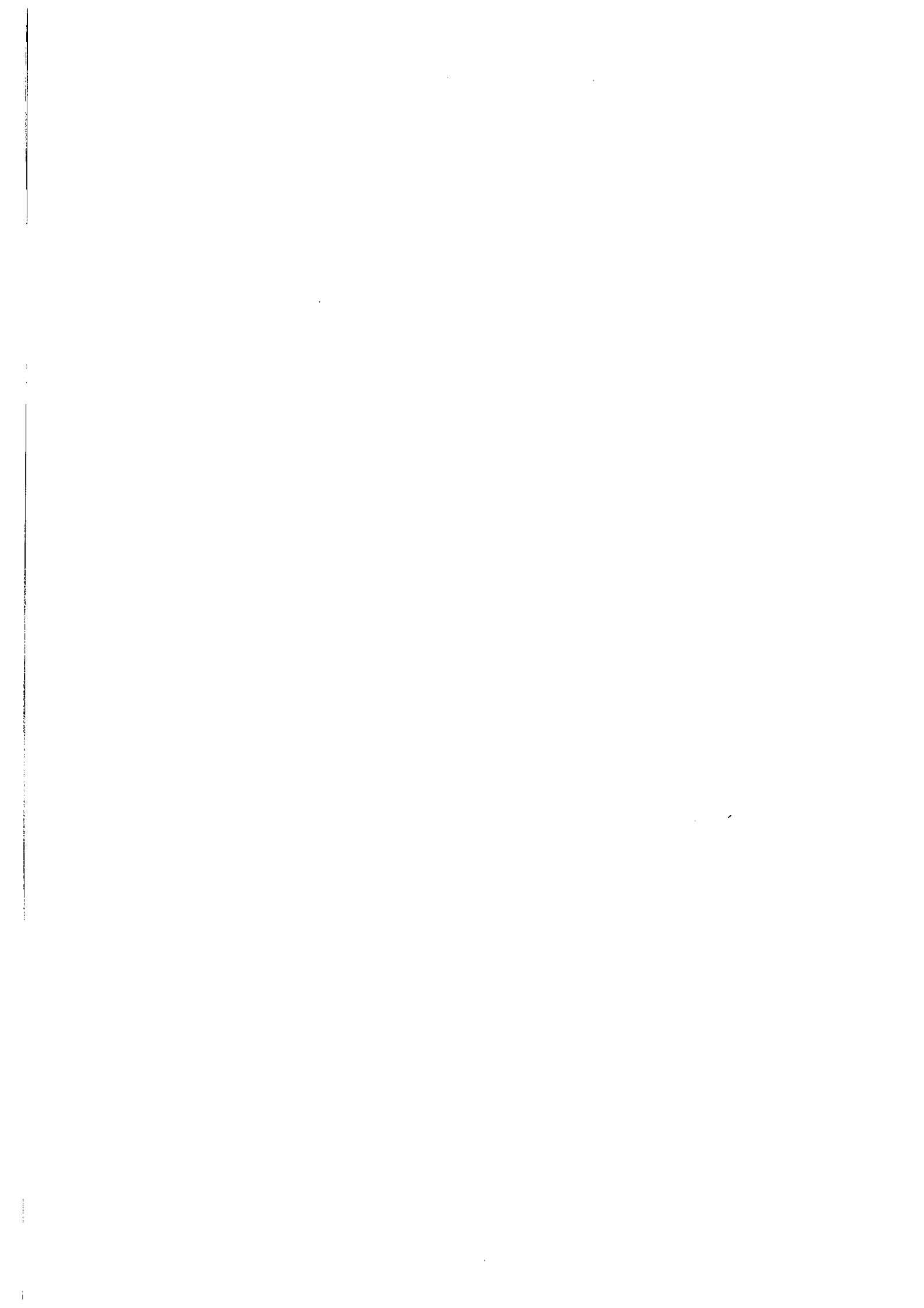
本試験にあたり、生柿を提供していただいた当センター園芸研究所果樹研究センターの主任専門員太田象一郎氏、主任研究員南條雅信氏及び主任研究員坂田清華氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 近雅代, 榛葉良之助, 四ツ溝柿の成熟, 貯蔵および干し柿加工中のカロチノイド組成の変化, 日本食品工業学会誌, 34, 155-162(1987).
- 2) 小宮山義弘, 辻政雄, 渋柿の遊離アミノ酸組成と干しガキ製造工程中のその変化, 山梨県食工指報告, 18, 45-49 (1986).
- 3) 松井修, 伊藤三郎, 村田侃, 馬場良明, 干柿の品質と化学成分との関係 (第2報), 園芸学会雑誌, 26, 105-110 (1957).
- 4) 平 智, 木村由美, 渡部俊三, カキ' 平種無' 果実のはく皮乾燥脱渋に及ぼす果実熟度の影響, 日本食品工業学会誌, 35, 528-533 (1988).
- 5) 林節男, 内山晃, 電熱式干柿乾燥装置の実用化試験, 農業機械学会誌, 46, 384-387(1984).
- 6) 林節男, 干柿の乾燥特性, 農業機械学会誌, 48, 389-392 (1986).
- 7) 林節男, 熱源増加による干柿乾燥の高効率化, 農業機械学会誌, 50, 115-119 (1988).
- 8) 林節男, カキの乾燥過程における2次表皮とその検知, 農業機械学会誌, 51, 71-77(1989).
- 9) 林節男, 電気制御式乾燥, 練炭火力乾燥およびガラスハウス乾燥を併用した柿乾燥, 富山県立大学紀要, 10, 109-115 (2000).
- 10) 本江薫, 山下市二, 竹島文雄, 中嶋實, 片山脩, 青木章平, 三社柿の生育過程における性状変化, 日本食品工業学会誌, 33, 176-180 (1986).
- 11) 富山県干柿機械乾燥技術指針, 富山県農林水産部普及技術課 (1987).
- 12) 平 智, 松本尚子, 小野未来, 甘柿および渋ガキ果実の発育過程におけるタンニンの蓄積と不溶化, 園芸学会雑誌, 67, 572 (1998).
- 13) Koichi Aizawa and Takahiro Inakuma, Quantitation of Carotenoids in Commonly Consumed Vegetable in Japan, Food Sci. Technol. Res., 13, 247-252(2007).
- 14) Akira Sugiura and Takashi Tomana,

Relationship of ethanol production by seeds of different types of Japanese persimmon and their tannin content, Hort. Science, 18, 319-321 (1983) .

- 15) 日本食品科学工学会、新・食品分析法編集委員会編：新・食品分析法 (1996).
- 16) 日本薬学会：衛生試験法・注解2000 (2000).
- 17) 福場博保, 宮川金二郎, 調理科学実験ハンドブック, 建帛社, p376-381 (1986).
- 18) 大城克明, 河村健, 干し柿用品種'三社柿'の果頂部軟化果発生に影響を及ぼす樹相と果実肥大に関する研究, 富山県農業技術センター研究報告, 23, 81-87 (2006).
- 19) 新川猛, 鈴木哲也, 尾関健, 加藤雅也, 生駒吉織, カキ'富有'の成熟に伴うカロテノイドの蓄積特性, 園芸学研究, 6, 251-256 (2007).



循環型機械乾燥機による米菓餅生地乾燥中の音の変化

加藤 一郎

(2013年1月21日受理)

糯米菓製造において、焼成前の餅生地の乾燥状態は製品の品質に大きく影響する。現在、餅生地の乾燥は主に循環型の機械乾燥で行われ、熟練した職人が経験と勘をもとに乾燥の進捗状況を餅生地の触感等により確認しながら乾燥程度を見るとともに、簡易に生地水分を測定し、乾燥工程を終了させている。

餅生地の乾燥程度の把握には水分の測定が必要であるが、その測定には時間がかかり、ライン全体の乾燥状態を把握し難い。本報告では、水分の減少により餅生地が硬くなることに着目し、一般に物が硬化するとその打音が変わることから、乾燥機内で餅生地がぶつかり合って発生する音が変わることが予想され、更に、音の計測はオンラインリアルタイムで可能であるので餅生地乾燥工程の制御に有効と考えた。そこで、米菓餅生地循環型機械乾燥中の音を測定し、その変化を検討したところ、餅生地の乾燥に従って米菓餅生地循環型機械乾燥中の音が変わることを確認したので報告する。

試験研究方法

1 米菓餅生地の乾燥工程と録音箇所の概要

米菓餅生地循環型乾燥機の構造は、図1に示すとおり、熱風が通過する箇所を短冊状などに切断整形された生地がコンベアにより、何度も繰り返し通過することにより、乾燥が進行する仕組みになっている。音の採取は、コンベアの昇降機から、落下する箇所（図1右上部）で行った。また、録音時には、乾燥中の米菓餅生地を採取し、水分を測定した。水

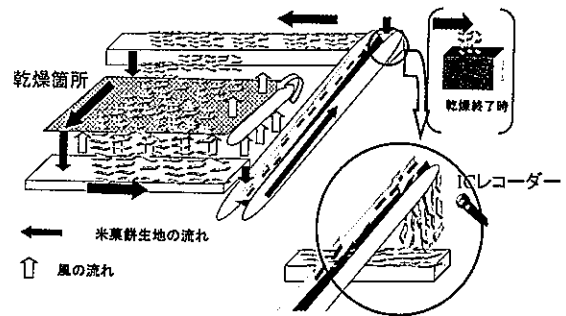


図1 餅生地循環型乾燥機の構造概略と録音箇所

分は米菓餅生地を135℃で一晩乾燥させることにより求めた。

2 録音方法および音の解析

昇降機から水平方向のコンベア上に乾燥中の餅生地が連続して落下する際に発生する音をICレコーダー（ステレオデジタルサウンドレコーダー）により収録した。収録には三洋電機 ICR-PS1000M（以後レコーダー 1000）及び三洋電機 ICR-PS004M（以後レコーダー 04）を用いた。内蔵マイクを使用し、録音条件は、使用したICレコーダーの最高品質録音条件である、非圧縮 pulse code modulation（リニアPCM）モードで、サンプリング周波数をそれぞれ48kHz（レコーダー 1000）、44.1kHz（レコーダー 04）とした。また、更に、原音が制限加工されて記録されるのを避けるため、自動レベルコントロール（ALC）：オフ、Low Cut フィルター：オフ、マイク感度：低とした。なお、本録音条件では、両レコーダーとも録音可能周波数範囲は、60Hz～20kHzの帯域であった。録音データは、

WAV形式で記録された。

なお、音響解析には音響解析ソフト（吉正電子 音響分析システム5 Jリアルタイムアナライザ）を用いて、WAV形式で記録された録音データを解析した。

表1 米菓生地乾燥時落下音を記録した状況概要

米菓餅生地の形状 生地1個の乾物量	乾燥設備・乾燥所要時間	録音箇所
42mm×15mm× 1.7mm 0.6g	第一次乾燥 乾燥所要時間約160分間を 録音	餅生地が循環型機械乾燥機内でま まって落下する箇所から上方約 60cm(図1に概略図を示す)

3 予測誤差計算

EXCELの関数STEYXを用いた。

実験結果

1 米菓餅生地の乾燥中の音

表2に示した解析条件でレコーダー1000および04の場合の20秒間測定の結果を結果（声紋図）を図2、3に示した。表2に示した解析条件は、サンプリングをレコーダーの録音条件のサンプリング周波数と同じにし、FFTサイズ、時間分解能を最大値、オクターブバンドを最密値とすることにより、より詳細で、また、平滑化及び移動平均をなしにすることにより、音データの加工度がより低くなることを目的にしたものである。レコーダー録音時のレコーダーが異なると同じ結果とはならず、レコーダー04は、レコーダー1000に比べて音の大きさが小さく記録されていた。しかし、周波数10kHz付近、5kHz付近、1kHzから100Hzに音量が大きいという結果は、両レコーダーとも共通して観測された。時間と音の大きさの関係を見ると、米菓餅生地が落下等により発する個々の音と思われる1秒間より短い幅での音の変化が見られた。

次に、使用した音響解析ソフトの最小サンプリング時間である1秒で解析（数値化）したところ、両レコーダーの録音データとも、60Hz～20kHzを202周波数の音量データにすることができた。図4には、1kHzの音の乾燥中の音量変化を示した。バラツキは大き

表2 音響解析ソフトによる音の解析条件

解析条件	設定値	備考
サンプリング	48kHz(レコーダー1000)、44.1kHz(レコーダー04)	
FFTサイズ	65,536	解析条件最大値
窓関数	Hanning	デフォルト
フィルター特性	Flat	デフォルト
平滑化(時定数)	なし	
移動平均	なし	
時間分解能	8×	条件最大値
オクターブバンド	1/24	条件最密値

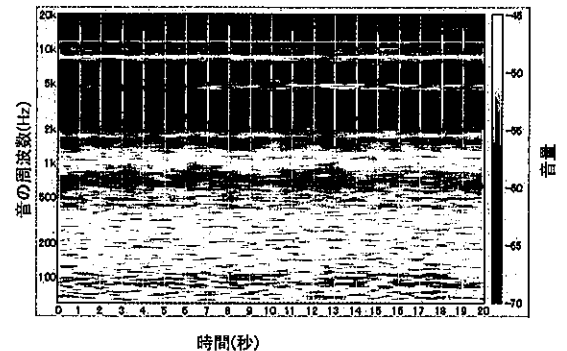


図2 米菓餅生地の落下音の声紋（レコーダー1000）

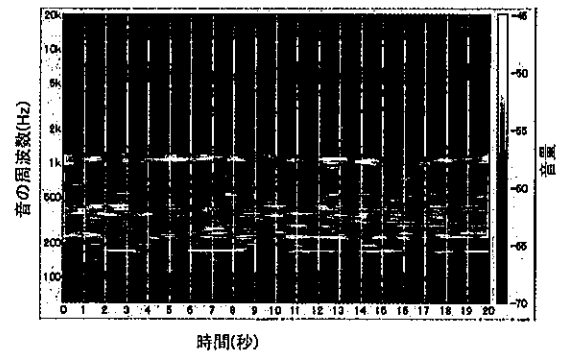


図3 米菓餅生地の落下音の声紋（レコーダー04）

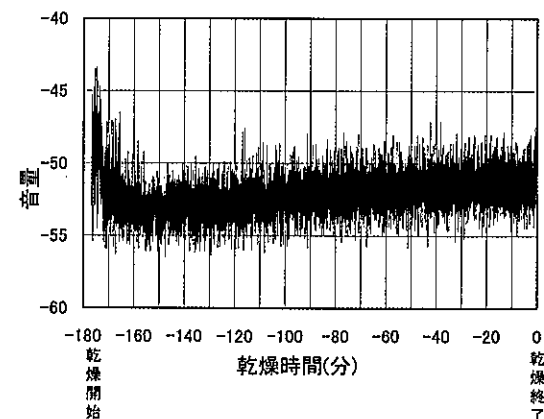


図4 餅生地乾燥中1kHz音の音量変化（レコーダー1000）

乾燥終了時を0分とし、乾燥終了までの時間を負数で示した。

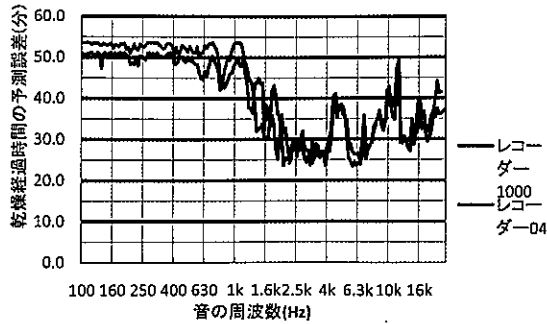


図5 各周波数音の音量による乾燥経過時間の予測誤差

いものの、乾燥の進行にしたがって音量が大きくなっていった。

2 米菓餅生地の乾燥経過時間と音

各周波数の音の1秒ごとの音量と乾燥経過時間の関係から乾燥経過時間を予測しその予測誤差を求め図5に示した。レコーダー1000と04の場合とで、細部は異なるものの、全体的な傾向は似ており、2 kHz から4 kHzの間や6.3kHz 近傍では乾燥経過時間の予測誤差が30分間以内であった。

3 米菓餅生地の水分と音

米菓餅生地の水分は、乾燥によって41.1 g / 100 g から22.6 g / 100 g となり、18.5 g / 100 g 減少した。乾燥終了近くでは、乾燥終了時の水分より低い水分も観測された。

米菓餅生地の水分と音の関係は、水分測定のために米菓餅生地を採取した時刻を1秒刻みには特定できないので、音について2分間120データの平均を求め、乾燥の進行に伴う音と水分の変化を図6、7に示した。使用したレコーダーによらずおおむね1 kHz から高周波数域で米菓餅生地の水分の減少に伴って音量が大きくなっていった。

次に、各周波数の音の2分間120データの平均と水分の関係から、各周波数の音による水分を予測し、水分の予測誤差を求め、図8に示した。1.6kHz から高周波数域で両レコーダーによる予測誤差の挙動は似ていた。2.1kHz から2.5kHz の周波数では、水分の予

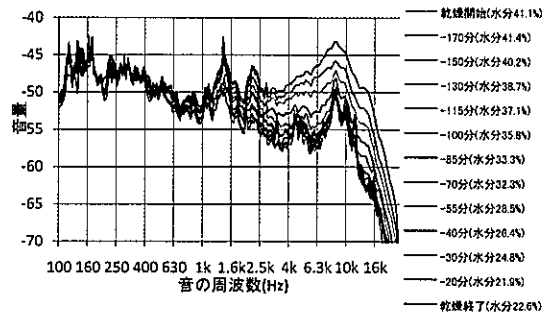


図6 米菓餅生地の乾燥経過時間と落下音 (レコーダー1000)

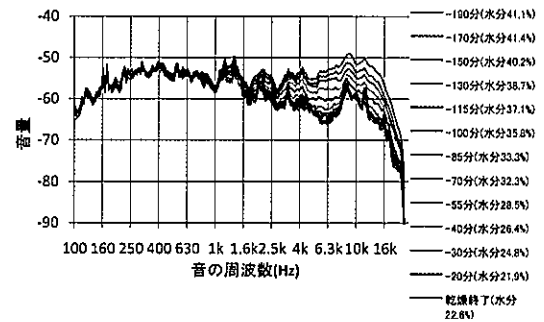


図7 生地の乾燥経過時間と落下音 (レコーダー04)

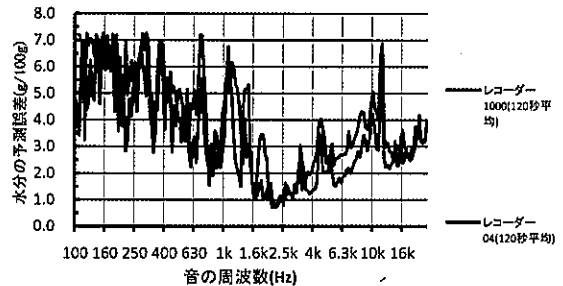


図8 各周波数音の音量による餅生地水分の予測誤差

測誤差が1.0 g / 100 g 以内であった。

考 察

米菓餅生地循環機械乾燥中の音は、現場において耳で聞いても、定常的な音ではなく、米菓餅生地が落ちるたびにバチ、バチと音がする瞬時瞬時に異なるバラツキのある音である。さらに、機械の動いている音など雑音が多い。本試験での解析結果でも、1秒以内の間隔で音の大きさが変化するバラツキのある結果が得られた。

各周波数の1秒ごとの音から乾燥経過時間を予測したとき、乾燥経過時間の予測誤差は、最小で25分間程度で、約180分で水分が18.5 g / 100 g 減少したことから、水分として考えると3 g / 100 g 程度に相当する。一方、音から水分を予測したとき、水分の予測誤差が小さい場合は1 g / 100 g 程度と異なっている。これは、音から水分を予測したときに2分間の音の平均を用いたためだと考えられる。偶然誤差のある測定値は、測定回数を増やし平均をとることによって、測定回数の平方根に反比例してその誤差は小さくなることから、平均をとることにより、バラツキが相殺され、米菓餅生地が落ちる音が強調されたものと考えられた。

本試験では、音により米菓餅生地の水分を1 g / 100 g 程度の精度で予測することが可能であるとの結果を得た。また、レコーダーの違いによって測定される音は必ずしも同じではないが、米菓餅生地の水分との関係については挙動が似ており、レコーダーの違いを考慮する必要はないと考えられた。

従って、餅生地の乾燥に従って米菓餅生地循環機械乾燥中の音が変化することを確認できたので、オンラインリアルタイムでの音による乾燥制御の可能性が示された。

海洋深層水を利用した野菜加工品の 品質劣化防止技術の開発

加藤 肇一、中川 秀幸

(2013年1月21日受理)

常温長期保存のため里芋やキクイモ等のいも類を水煮へ加工した場合、加熱による軟化が食味の低下を引き起こすことがある¹⁾²⁾。また、ワラビやギョウジャニンニク等の緑色山菜の加工品(漬物、水煮)は加工・保存・流通中に色が変色したり表面のほつれが生じるなど品質が劣化することが問題となっている。これらの問題点を抑制または防止するため、従来食品添加物が利用されていたが、昨今の消費者の食の安全への関心が高まる中、食品添加物を使用しない加工方法が求められている。一方、海洋深層水はマグネシウムやカルシウム等のミネラル成分を多く含む天然の食品素材で、その利用拡大が求められている。

この海洋深層水を利用した野菜加工品の品質劣化防止技術について検討した結果、ワラビの繊維質化防止、山ウドの硬さバラツキ防止、マコモタケの軟化抑制効果が確認できたので報告する。

実験方法および結果

1. 水煮ワラビ

アク抜きしたワラビを直接水煮にすると肉質部が軟化溶出し、繊維だけが残る味の悪いものになるため、水煮の前に塩漬けを行うことが一般的である。アク抜き時に海洋深層水を用いることによりこの塩漬け工程が省略できないか検討した。0.2%重曹を含む沸騰した水、海洋深層水原水および3.5%NaCl溶液それぞれ200mlにワラビ100gを浸漬し、16時間静置した後5時間水晒しした。水でアク抜き

した区は1週間塩漬け後水晒ししたものとそうでないもの、海洋深層水原水および3.5%NaCl溶液区は直接水煮に加工した。水煮は、各試験区のワラビをそれぞれ袋詰めし、いずれも0.05%のクエン酸を添加した水を封入した後、75℃、40分間加熱殺菌を行った。ワラビの肉質部流出度合いは水切りをしたワラビの重量を測定することにより数値化した(重量保持率(%)=処理後ワラビ重量/処理前ワラビ重量×100)。その結果、水でアク抜き後塩漬けした区では4%の減少、一方塩漬けしない区では22%の減少であった(図1)。海洋深層水区は6%、3.5%NaCl溶液区は18%の減少であった。従って海洋深層水を用いてアク抜きすれば塩漬け工程を省略しても従来の品質を保てると考えられた。海洋深層水と同濃度のNaCl溶液では効果がなかったことからカルシウムやマグネシウムなどの海水に含まれているミネラル成分が寄与成分ではないかと推測した。また、ポリフェノール含量を指標にアク抜きの効果を調べたところ、生ワラビに含まれるポリフェノール(0.82g/

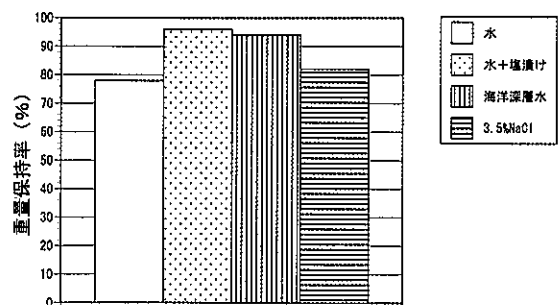


図1 ワラビの種々のアク抜き方法における水煮後の重量保持率

100 g、カテキン換算) がアク抜きにより、水区で0.21 g/100 gに減少したのに対し海洋深層水区では0.12 g/100 gとより減少幅が大きかったことから、海洋深層水にはアク抜き促進効果も期待できると思われた (図2)。

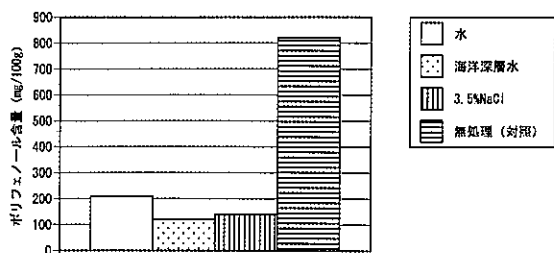


図2 ワラビの種々のアク抜き方法によるポリフェノール含量の変化

海洋深層水でアク抜きして製造したワラビ水煮の常温 (25℃) での保存試験を行った結果、10ヶ月保存後においても目視による退色や肉質部減量がみられず、品質が保持されていることがわかった (表1)。

表1 試作品の保存試験 (保存温度25℃)

	2ヶ月	4ヶ月	6ヶ月	8ヶ月	10ヶ月
生菌数 (個/g)	100以下	100以下	100以下	100以下	100以下
退色	—	—	—	—	—
減量	—	—	—	—	—

退色せず：— 1%以上の減量せず：—

2. 水煮山ウド

山ウドの水煮加工工程では、原料の山ウドが比較的太いものはその外皮が硬く食に向かないため手作業による剥皮処理が行われている。しかし、この作業には多くの労力を要し加工現場の負担となっていることから、軟化等、他の処理方法が求められている。そこでミカンの缶詰製造で剥皮工程に用いられている酸・アルカリ処理を試みた。その結果、0.5%塩酸の1時間浸漬で外皮は官能的に柔らかく

はなったが緑色が大きく退色してしまった。

次に酵素による軟化を検討した。水晒しを行って塩抜きした塩漬け山ウドを5cm間隔で切断し、6個ずつ200mlのビーカーに入れ、0.05、0.5、1、2、5%の濃度に調製したペクチナーゼ水溶液 (ペクチナーゼHL、ヤクルト薬品工業製) を液面から露出しなくなるまでそれぞれに加えた。室温25℃の環境下で1時間静置した後、流水で酵素を洗い流した。その後直ちに破断荷重測定を行った結果、対照の破断荷重12.5kgfに対し酵素濃度2%の区が5.2kgfと硬さを大きく低減させた (図3)。しかし、同時に硬さのバラツキも大きくなり、柔らかくなりすぎるものも見られた。そこで山ウド水煮の封入液に海洋深層水のミネラル脱塩水を用いることで解決できないか検討を行った。2%ペクチナーゼ処理した山ウド6個を袋に入れ、水またはミネラル脱塩水200mlを加えた後、75℃40分間の加熱殺菌を行った。これらの破断荷重を測定した結果、両者の硬さには有意差が見られなかったが、ミネラル脱塩水を用いた方は硬さにバラツキが少なく、また柔らかすぎるものも見られなかった (図4)。このバラツキを抑制する働きはミネラル脱塩水に含まれる金属成分の内、カルシウムにあるのではないかと考えた。そこでミネラル脱塩水に含まれるカルシウムと同じ濃度 (290ppm) の乳酸カルシウム溶液を調製し、同様の操作を行った。その結果、ミネラル脱塩水を用いたものと同様な結果が得られ、カルシウムが硬さのバラツキを抑制

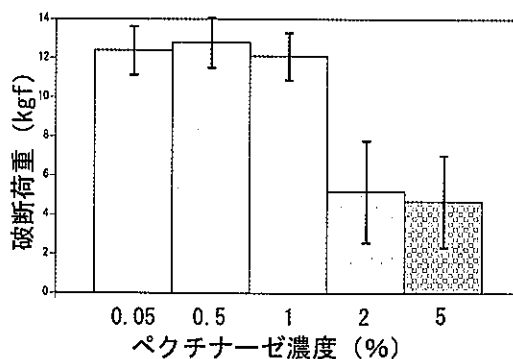


図3 各ペクチナーゼ濃度での山ウドの破断荷重

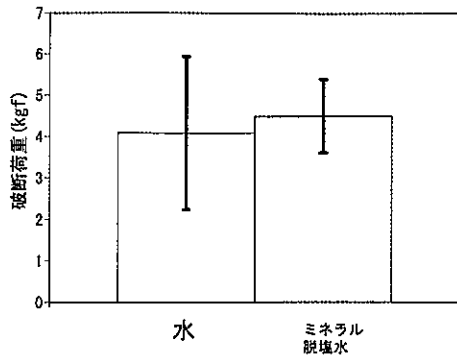


図4 水煮山ウドの破断荷重

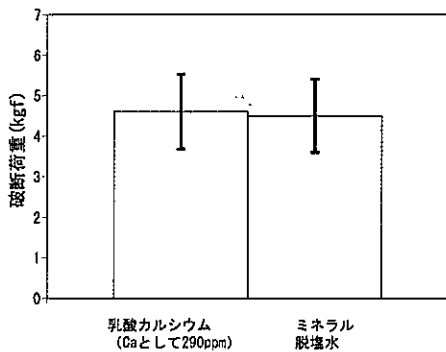


図5 水煮山ウドの破断荷重

すると推測した (図5)。

また、この酵素処理を施して製造した山ウド水煮の保存性を見るため、常温 (25℃) での保存試験を行った結果、半年後においても一般生菌数の増加は見られなかった。

3. 水煮マコモタケ

マコモタケはタケノコとアスパラガスを合わせたような歯触りのよい食感を有している。しかし、加熱殺菌行程により軟化してしまうため、海洋深層水の利用による食感低下防止効果を検討した。長さ5cmに切断したマコモタケ6個を水またはミネラル脱塩水 (海洋深層水から塩分だけを除いたもの) 200mlとともに袋に入れ、封入した後、90℃で50分間加熱し水煮を試作した。水煮マコモタケの破断荷重を「くさび型」プランジャーにて測定した結果、水を用いたものは606gf、ミネラル脱塩水を用いたものは859gfと、ミネラル脱塩水を用いることにより軟化の程度を小さくできることがわかった (図6)。また、ミネラル

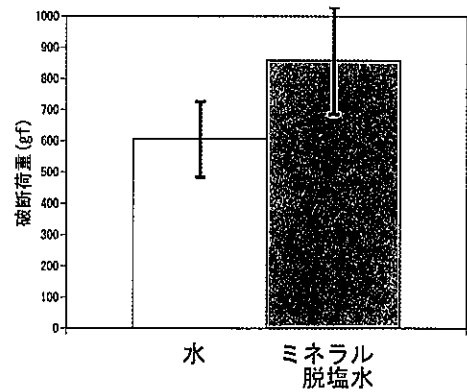


図6 水煮したマコモタケの破断荷重

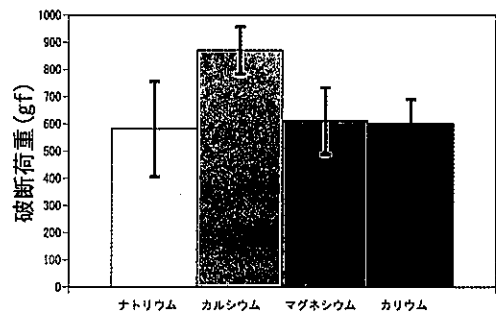


図7 個別ミネラルによるマコモタケ水煮の破断荷重

脱塩水を用いたものは官能的にもシャキシャキ感が保持されていた。さらにミネラル脱塩水に含まれるミネラルの内、どの成分がこの効果に寄与したか解明するため、個別ミネラルによるモデル実験を行った。すなわち、ミネラル脱塩水のそれぞれのミネラル濃度 (ナトリウム (690ppm)、カルシウム (290ppm)、マグネシウム (1080ppm)、カリウム (18ppm)) の溶液を調製し、前述と同様の試験を行った。その結果、破断荷重はナトリウムが583gf、カルシウムが872gf、マグネシウムが613gf、カリウムが602gfであり、主にカルシウムが軟化防止に影響していると思われる (図7)。

また、マコモタケ水煮の保存性を調べるため、常温25℃での保存試験を行った結果、4ヶ月間経過後も一般生菌数の増加は認められなかった。また、色などの外観や食味も製造直後の状態を保っており、本製品の実用化は十分可能であると考えられた (写真1)。



写真1 試作したマコモタケ水煮

要 約

1. 水煮ワラビ

アク抜きしたワラビを直接水煮にすると肉質部が軟化溶出し、繊維だけが残る味の悪いものになるため、水煮の前に塩漬けを行うことが一般的である。しかし、海洋深層水を用いてアク抜きすれば塩漬け工程を省略しても従来の食味を保てることがわかった。

2. 水煮山ウド

山ウドの水煮加工工程で、封入液として海洋深層水のミネラル脱塩水を用いることで、硬さにバラツキがない高品質の製品を得ることができた。

3. 水煮マコモタケ

マコモタケの殺菌加熱による食感低下（軟化）は、封入液として海洋深層水ミネラル脱塩水を用いることで抑制できることがわかった。

文 献

- 1) 加藤肇一、大塚耕太郎、横井健二、松永明信「海洋深層水およびその電気透析処理水の利用によるフキ水煮製品の軟化抑制」海洋深層水研究、第8巻、第1号、1-6 (2007)
- 2) 加藤肇一「海洋深層水を利用したクワイモ水煮の開発」農業技術、第65巻、第7号、242-246 (2010)

学位論文

富山県地域資源からのγ-アミノ酪酸(GABA)生成乳酸菌の分離とその食品への応用に関する研究

寺島 晃也

第1章 緒論

地域の伝統食品や自然産物には人間にとって有用な微生物が存在し、例えば酵母では山口県の桜の花から分離された桜花酵母¹⁾、乳酸菌では北海道の漬物から分離されたHOKKAIDO株²⁾、白神山地の土壌から分離された白神乳酸菌³⁾など、地域の生産物の加工に利用され、特色のある食品開発に役立っている。一方、近年になり乳酸菌の一部に健康機能成分であるγ-アミノ酪酸（GABA）生成能を有するものが見いだされ、この乳酸菌を用いてGABA含量を高めた漬物やチーズ等の製造が試みられている⁴⁻⁸⁾。GABAは哺乳動物の中枢神経において抑制系の神経伝達物質として関与するアミノ酸で、グルタミン酸脱炭酸酵素の作用によりグルタミン酸が脱炭酸され生成する⁹⁾。GABAには血圧安定化作用や自律神経障害改善作用、肝機能改善作用など、多様な生理作用が報告されており¹⁰⁻²⁵⁾、茶やチョコレート、乳飲料などGABA含有を高めた食品が多数販売され、その売り上げは年間150億円に達し、年々増加している。

第1節 γ-アミノ酪酸

γ-アミノ酪酸は、gamma-aminobutyric acid または 4-aminobutyric acid、4-aminobutyric acid と表記され、通常GABA（ギャバ）とよばれている。GABAは融点203℃、酸解離定数4.0459（15℃）、水への溶解性 1.30×10^6 mg/L（25℃）、蒸気圧 1.98×10^{-8} mmHg（25℃）の物性を有する分子量103.12の化合物である¹³⁾。

GABAは動物、植物、微生物など自然界に幅広く存在している非たんぱく質構成アミノ酸の一種で、生体内においては小脳や脊髄、海馬などに多く存在しており、中枢神経系の抑制系伝達物質として作用している⁹⁾。生体内においては、TCAサイクルの側路として存在する4-アミノ酪酸経路において生合成される。即ち、TCAサイクルのα-ケトグルタル酸からグルタミン酸を経てグルタミン酸脱炭酸酵素によりGABAが生成される。GABAはアミノ酸転移酵素の作用により、コハク酸セミアルデヒド、次いでコハク酸となり、TCAサイクルに戻ってくる^{9,13)} (Fig. 1)。

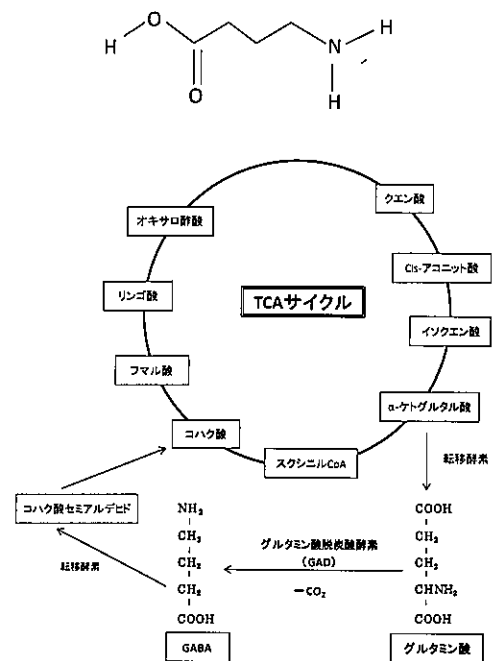


Fig. 1 GABAの構造式と生合成・代謝経路

第2節 GABAの生理作用

1950年、FloreyとRobertにより、哺乳類の脳抽出液からGABAが発見されて以来、これまでに様々な生理作用の研究が行われている¹⁶⁾。1953年にはGABAが哺乳動物の中樞神経系における代表的な抑制的神経伝達物質であることが報告され、現在、医薬品として「ガンマロン(第一製薬)」という商品名で、脳卒中や脳動脈系疾病による頭痛、耳鳴り、意欲低下等の治療に用いられている¹⁶⁾。近年、神経伝達物質としての役割だけでなく、以下のような様々な生理作用が報告されている。

① 脳機能改善作用

GABAによりTCAサイクルの導入部に必要なヘキソキナーゼ活性が高まり、脳内のグルコース代謝が活性化され、その結果、脳内の血流量が増加すると報告されている¹⁷⁾。

② 精神安定作用

脳内情報伝達は、興奮性シグナルと抑制性シグナルにより調整されており、GABAは抑制性伝達物質として作用し、神経の興奮を抑え、精神を安定化させる。更年期あるいは初老期の女性にGABAを摂取させると、更年期障害の症状である不眠やイライラが改善されたと報告されている¹¹⁾。

③ 血圧降下作用

GABAは延髄の血管運動中枢に作用して、血圧を降下させるとともに、抗利尿ホルモンであるバソプレッシンの分泌を抑制し、血管を拡張して血圧を降下させる。GABA含有食品では、紅麹¹⁸⁾、ギャバロン茶¹⁹⁾、パンプキンギャバ²⁰⁾、GABAクロレラ¹⁰⁾、GABA発酵大豆²¹⁾、GABA乳飲料²²⁾等多数のGABA含有食品による血圧降下作用が報告されている。

④ 成長ホルモン分泌促進作用

ドーパミンの放出は成長ホルモンの分泌を促進するが、GABAはドーパミンの放出を促し、その結果、成長ホルモンの分泌を促進すると報告されている²³⁾。

⑤ 大腸がん抑制作用

GABA富化米胚芽のラットへの投与試験により、大腸腫瘍の抑制効果が確認されている¹⁶⁾。

⑥ 肝機能改善作用・肥満防止作用

GABA富化米胚芽のラット及びヒトへの投与試験により、アルカリフォスファターゼ(ALP)とトランスアミナーゼ(GPT)の数値が顕著に低下し、肝機能の改善に効果があると報告されている。また、その他の試験において、アルコール代謝促進による二日酔いの軽減作用や肝臓及び血中の中性脂肪(トリグリセリド)低下による肥満防止作用が報告されている²⁵⁾。

第3節 GABA富化方法およびGABA富化食品素材開発の現状

Fig. 1に示すようにGABAはグルタミン酸がグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD)の作用を受けて生成する⁹⁾。GADは動物、植物に広く分布しており、植物ではカボチャ、キュウリ、ニンジン、トマトなどに含有されている²⁸⁾。GABAの富化方法は大きく分けて、植物内のGADを様々な手法で活性化させる方法と、GAD活性を有する微生物を利用する方法に大別され、以下に示すようなGABA富化方法および食品素材が考案されている。

1) 植物内在GADを利用する方法

① ギャバロン茶

茶を窒素ガス充填による嫌気処理と空気にさらす好気処理を複数回繰り返すことにより、好気処理でグルタミン酸が生成し、嫌気処理でGABAが生成する。このギャバロン茶100g中にはGABAが200mg程度含有すると報告されている¹⁹⁾。

② 発芽玄米

玄米の胚芽には100gあたり50mg程度のGABAが含有されているが、玄米を水に浸漬することにより、胚芽中のGADが活性化し、グルタミン酸からのGABA変換率が

上昇する。発芽玄米中には玄米の2.8倍、白米の10倍のGABAを含有すると報告されている²⁶⁾。発芽玄米はGABA食品の代表的な商品として多様な製品が販売され、その売上高は年間100億円に達し、大きな市場を形成している。

③ GABAもやし

大豆もやしをポリエチレン袋に二酸化炭素ガスとともに密封することにより、GADが活性化し、そのGABA含量は、100gあたり18mgから140mgに増加したと報告されている²⁷⁾。

④ パンプキンギャバ

カボチャは野菜、果実のなかでも特にGAD活性が高く、カボチャのGADを利用し、GABAを10%含有する加工食品が開発されている²⁸⁾。

2) GAD活性を有する微生物を利用する方法

① ギャバクロレラ

クロレラ細胞をpH酸性域で培養することにより、GADを活性化させ、多量のGABAを含有させる方法が報告されている¹⁰⁾。

② 紅麹

ハトムギに紅麹菌を増殖させた紅麹において顕著にGABA含量が高まることが報告されている²⁹⁾。

③ 酵母

ワイン酵母から分離した *gap1 put4 uga4* 変異株を用いてGABA含量を高めたワインの醸造が報告されている³⁰⁾。

④ 乳酸菌

乳酸菌においては菌株保存機関の菌株をはじめとして、広くそのGABA生成能が調べられているとともに、GABA生成能を有する乳酸菌の探索が各地で試みられてい

る⁴⁻⁸⁾。即ち、ほとんどの乳酸菌はGABA生成能を有していないが、一部の乳酸菌にはGABA生成能が認められている。また、乳酸菌のGABA生成能は特定の属種に偏って認められるものではなく、同じ属種でも、そのGABA生成能は全く異なっていることが明らかとなっている。さらに、菌株によって、そのGABA生成能には大きな差があることも報告されている⁵⁻⁸⁾。近年、GABA生成能を有する乳酸菌によりGABA含量を高めた乳酸飲料、チーズ、漬物等の製造が試みられている⁴⁻⁸⁾。

現在、GABA含有食品の製造は、原料に化学合成法や発酵法により精製したGABAを添加することにより行われている¹³⁾。しかし、上述の方法を応用することで、食品製造にうまみ調味料として幅広く添加されているグルタミン酸ナトリウム(MSG)を用いることにより、GABAを直接添加することなく、GABAを豊富に含有する食品の製造が可能になることから、さらなるGABA富化手法の開発やGABA生成能を有する微生物の検索・分離が期待されている。

本研究では富山県地域の微生物資源を有効に活用し、健康機能性を有する乳酸発酵食品の開発によって、地域食品産業の活性化を図ることを目的に、食品や自然産物などの富山県地域資源からGABAを生成する乳酸菌を探索し、その同定およびGABA生成特性の検討を行った。さらに、分離したGABA生成乳酸菌をスターターとして、富山県の伝統漬物である「かぶらずし」および非加熱発酵ソーセージを製造し、その性状および品質についても検討した。

第2章 富山県産漬物からのGABA生成乳酸菌の分離とそのGABA生成特性の解明

乳酸菌のGABA生成能は特定の属種に偏って認められるものではなく、同じ属種であっても全く異なっており⁵⁾、それぞれの生育環境に適応してGABA生成能を獲得していったと推察される。乳酸菌がGABAを生成するのは生育環境の酸性化に対する防御反応であり³⁾、漬物などのpHが酸性域の乳酸発酵食品にはGABA生成能を有する乳酸菌が存在する可能性が高く、京都の千枚漬けからは高いGABA生成能を有する乳酸菌が分離されている⁸⁾。そこで、富山県内で製造されている漬物を対象に、GABA生成乳酸菌の分離を試みた。

第1節 試料および実験方法

1) 試料

GABA生成乳酸菌の探索対象として富山県内で製造されている糠漬け5点、キムチ3点、浅漬け2点、しば漬け2点、たくあん2点、奈良漬け1点およびかぶらずし5点の計20点を試料として用いた。

2) GABA生成菌株の分離

供試食品へL-グルタミン酸モノナトリウム(MSG)を5 mg/g添加後、30℃で120時間培養し、MSG添加直後と培養後のGABA量およびグルタミン酸量を定量した。培養後、顕著にGABA量の増加が認められた試料について、試料10gに90mlの滅菌生理食塩水を加え懸濁希釈後、乳酸菌分離用培地(日水製薬製BCP加プレートカウントアガール)を用い37℃で72時間平板培養し、生育した乳酸菌についてコロニーの形態の異なるものを20株釣菌し、GYP寒天培地に塗布して30℃で24時間培養純化した。純化した菌株はMSGを1%添加したGYP液体培地(glucose 1g, yeast extract 1g, peptone 0.5g, meat extract 0.2g, Na-acetate·3H₂O 1g, MgSO₄·7H₂O 20mg, FeSO₄·7H₂O 1mg, MnSO₄·4H₂O 1

mg, NaCl 1mg, Tween80 50mg, water 100ml, pH6.8)に接種し、30℃、120時間静置培養後のグルタミン酸量の減少とGABAの生成量を測定し、GABA生成能を確認した。

3) グルタミン酸およびGABAの定量分析

MSGを添加した試料については1gを75%エタノール30mlで懸濁し、80℃で加温抽出後、減圧乾固し、0.02N塩酸50mlに溶解したものを測定試料とした。GYP液体培地については0.02N塩酸で100倍に希釈したものを測定試料とした。測定はアミノ酸分析計(日立製作所製L-8500)を用いて、ニンヒドリン発色法により行った。

4) GABA生成菌株の同定分析

分離したGABA生成菌株について16S rRNAの塩基配列を解析し、DDBJのデータベースに対しての相同性検索により菌種の同定を行った。

5) GABA生成乳酸菌の生育条件の検討

分離乳酸菌の生育条件(温度・NaCl濃度・pH)を漬物製造に広く利用されている*Lactobacillus plantarum*(協和ハイフーズ社製LPT:漬物・発酵ソーセージ用)と比較した。即ち、GYP液体培地にGABA生成乳酸菌、*L. plantarum*をそれぞれ10⁵cells/ml接種し、30℃、120時間静置培養後、濁度計(TAITEC mini photo 518R)を用いて660nmにおける吸光度を測定し、0.3以上を生育可(+)、0.3未満を生育不可(-)とした。生育温度は5~30℃、NaCl濃度は3~10%、pHは3.0~6.0とした。なお、pHは食品添加用90%乳酸で調整した。

6) GABA生成乳酸菌のGABA生成能の検討

分離したGABA生成乳酸菌について、そのGABA生成能を検討した。即ち、下記のように調製したGYP液体培地に分離乳酸菌を10⁵cells/ml接種し、30℃で5日間静置培養後、GABA生成量を測定した。生成したGABA

のモル濃度を GYP 液体培地に添加した MSG のモル濃度で除して GABA 変換率とした。なお、pH は食品添加用 90% 乳酸を用いて調整した。

① MSG 濃度の影響

MSG を 50~400mM 添加した GYP 培地における各株の GABA 生成能を検討した。なお、GYP 培地の初発 pH は 7.0 とした。

② 初発 pH の影響

GYP 培地の MSG 添加量を 100mM に固定し、初発 pH 4.0~7.0 における GABA 生成能を検討した。

③ NaCl 濃度の影響

GYP 培地の MSG 添加量を 100mM に固定し、NaCl 0~6% における GABA 生成能を検討した。培地の pH は 7.0 とした。

第 2 節 実験結果および考察

1) GABA 生成菌株の分離

供試試料へ GABA の前駆物質である MSG を添加し、培養した際の培養前後の GABA とグルタミン酸の含有量を測定した。その結果、糠漬け、キムチ、しば漬け、たくあんおよび奈良漬で GABA の生成が認められた。なかでも糠漬け A は 445mg/100g と多量の GABA を生成し、含有する乳酸菌による GABA 生成の可能性が示唆された (Table 1)。そこで、糠漬け A から乳酸菌と推定されるコロニーを 20 株分離し、株毎に MSG を 1% 添加した GYP 液体培地に接種培養後、生成した GABA 量を測定した。その結果、No. 4 の菌株がほとんどのグルタミン酸を GABA に変換し、538mg/100ml と最も多く GABA を生成したことから、本菌を GABA 生成菌株として選択した (Table 2)。

Table 1 GABA and glutamic acid contents in pickles

	Initial		After incubation	
	GABA	Glu	GABA	Glu
<i>Nukazuke</i> A	146	578	591	26
<i>Nukazuke</i> B	112	551	186	456
<i>Nukazuke</i> C	86	530	157	430
<i>Nukazuke</i> D	91	572	135	513
<i>Nukazuke</i> E	77	527	124	465
<i>Kimuchi</i> A	45	856	76	806
<i>Kimuchi</i> B	37	1050	42	1038
<i>Kimuchi</i> C	76	1120	104	1006
<i>Asazuke</i> A	25	1240	27	1230
<i>Asazuke</i> B	32	1080	37	1046
<i>Shibazuke</i> A	26	1130	53	1112
<i>Shibazuke</i> B	32	970	43	934
<i>Takuan</i> A	45	960	76	912
<i>Takuan</i> B	68	1140	70	1115
<i>Narazuke</i>	76	880	115	729
<i>Kaburazushi</i> A	38	510	41	501
<i>Kaburazushi</i> B	17	507	22	511
<i>Kaburazushi</i> C	32	533	40	528
<i>Kaburazushi</i> D	41	515	27	510
<i>Kaburazushi</i> E	37	509	33	531

mg/100g

Table 2 Production of GABA by bacteria isolated from *Nukazuke* A

No.	GABA	Glu
①	25	864
②	18	849
③	23	910
④	538	41
⑤	19	884
⑥	22	846
⑦	23	789
⑧	17	816
⑨	27	835
⑩	3	826
⑪	25	818
⑫	121	642
⑬	17	843
⑭	34	829
⑮	71	816
⑯	32	844
⑰	26	902
⑱	18	885
⑲	41	798
⑳	5	911

mg/100g

2) 分離 GABA 生成菌株の同定

糠漬け A (Fig. 2) より分離された GABA 生産菌株について、16SrRNA 塩基配列解析による菌種の同定の結果、99.5% の相同率で *Pediococcus acidilactici* と同定され (Table 3)、本菌株を PA-TOYAMA と命名した。

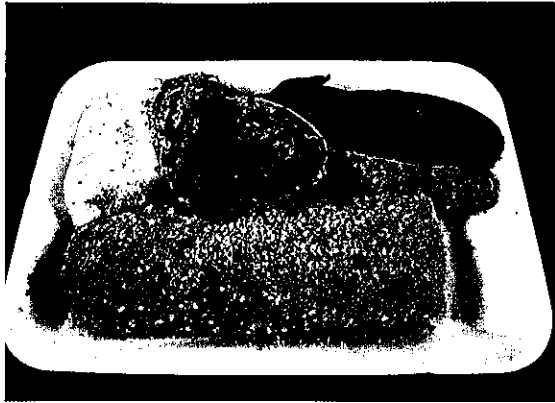


Fig. 2 Nukazuke A

Table 3 Identification of the isolate

Samples	Strain No.	Species	Sequence similarities (%)
NukazukeA	4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.5

3) 分離 GABA 生成乳酸菌の生育特性

次に漬物製造への利用を想定し、PA-TOYAMA の生育条件を漬物製造によく利用されている *L. plantarum* と比較検討した結果、生育温度については *L. plantarum* と同様に 5℃では増殖しなかったが 10~30℃での生育が可能であった。NaCl 濃度については *L. plantarum* は 8%まで生育可能であったのに対し、PA-TOYAMA はより高い 9%まで生育が可能であった。pH については *L. plantarum* と同様に pH3.0~6.0 の pH 域で生育が可能であった (Table 4)。

Table 4 Growth condition of PA-TOYAMA and *L. plantarum*

		PA-TOYAMA	<i>L. plantarum</i>
Growth temperature(°C)	5	--	--
	10	+	+
	20	+	+
	30	+	+
NaCl(%)	3	+	+
	4	+	+
	5	+	+
	6	+	+
	7	+	+
	8	+	+
	9	+	--
	10	--	--
pH	3.0	+	+
	4.0	+	+
	5.0	+	+
	6.0	+	+

--:<0.3 at abs.660nm

4) 分離 GABA 生成乳酸菌の GABA 生成能

① MSG 濃度の影響

MSG 濃度が GABA 生成に及ぼす影響について検討した結果、PA-TOYAMA は MSG 50mM 添加で 42mM、400mM 添加で 161mM の GABA を生成した。MSG 濃度が高まると GABA 生成量も増加したが、GABA 変換率は MSG 50mM では 84%、同 100mM 78%、同 200mM 54%、同 300mM 54%、同 400mM 40% となり、MSG の濃度が高くなるにつれて GABA 変換率は徐々に低下していた (Fig. 3)。

② 初発 pH の影響

初発 pH が GABA 生成におよぼす影響について MSG 濃度を 100mM に固定して検討した結果、pH5.0 で 90mM と最も多くの GABA を生成し、次いで pH6.0 の 83mM、pH7.0 の 78mM、pH4.0 の 68mM の順となった (Fig. 4)。

③ NaCl 濃度の影響

NaCl 濃度が GABA 生成におよぼす影響について MSG 濃度を 100mM に固定して検討した結果、NaCl 2%までは NaCl 濃度の増加にともない GABA 生成量は徐々に増加する傾向を示し、NaCl 1%で 82mM、2%で 86mM の GABA を生成した。しか

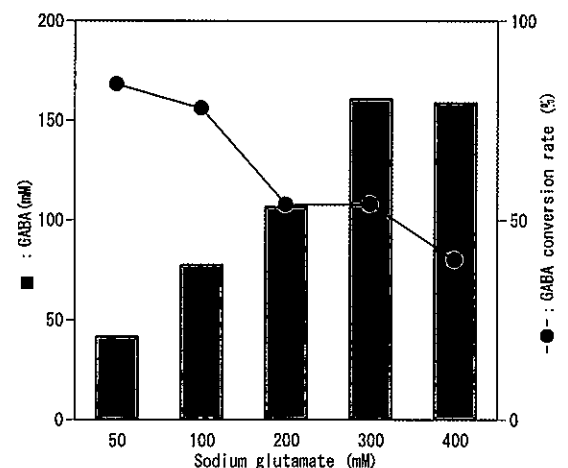


Fig. 3 Effect of sodium glutamate concentration in medium on production of GABA by PA-TOYAMA
The strain cultivated in GYP medium (pH 7.0) for 5 days at 30°C

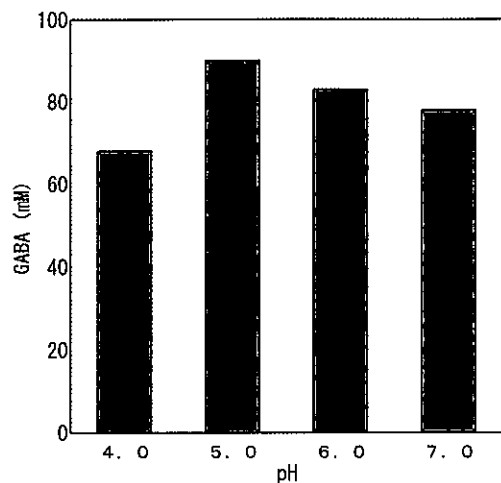


Fig. 4 Effect of medium initial pH on production of GABA by PA-TOYAMA
The strain cultivated in GYP medium contains 100mM sodium glutamate for 5days at 30°C

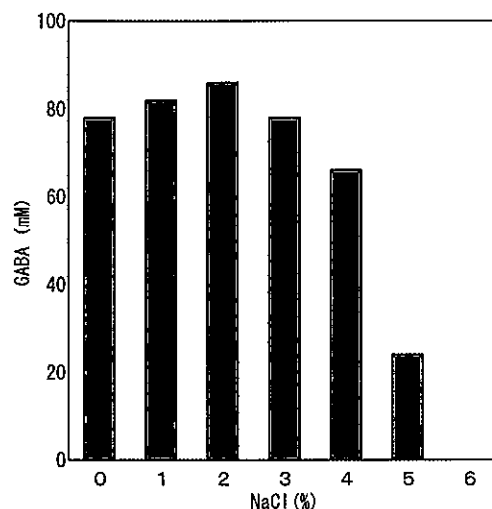


Fig. 5 Effect of medium NaCl concentration on production of GABA by PA-TOYAMA
The strain cultivated in GYP medium (pH 7.0) contains 100mM sodium glutamate for 5days at 30°C

し、NaCl 3%以上ではGABA生成量は減少し、5%で24mMと著しい減少がみられ、6%ではGABAの生成は認められなくなった (Fig. 5)。

第3節 小 括

7種20品目の富山県産の漬物からGABA生成乳酸菌の分離を試みた結果、糠漬けから高いGABA生成能を有する乳酸菌が分離され、*Pediococcus acidilactici*と同定された。*P. acidilactici*はビール、醤油、味噌等の穀物発酵物に分布するホモ型乳酸球菌であり、耐塩性や増殖力に優れていることから、ピクルスなどの野菜加工品のスターターとして広く利用されている³²⁾。分離した*Pediococcus acidilactici* (PA-TOYAMA)についてGABA生成能の検討を行

った結果、50~400mMのMSGから42~161mMのGABAを生成した。

生理機能の発現に必要なGABA量(一日摂取量)は血圧降圧作用については12mg¹⁴⁾、抗ストレス作用は50mg¹³⁾と報告されており、PA-TOYAMAをスターターとして用いた場合、生理機能の発現に必要なGABA量を十分生成することが明らかになった。PA-TOYAMAはMSG濃度が高くなるにしたがいGABA生成量も増加したが、GABA変換率は低下した。また、PA-TOYAMAはpH5.0、NaCl2%でGABA生成量が最も高くなった。PA-TOYAMAは*L. plantarum*と同様に耐塩性や低温増殖性に優れていることも明らかとなり、漬物や発酵食肉製品等、さまざまな食品への利用が期待された。

第3章 富山県地域資源（食品、自然産物）からのGABA生成乳酸菌の分離とそのGABA生成特性の解明

第2章において富山県産の漬物よりGABAを生成する乳酸菌を探索した結果、1株のGABA生成乳酸菌PA-TOYAMAを分離した。乳酸菌はスターターとして利用される食品の種類によってその適性が異なり、1株の乳酸菌株

では製造出来る食品が限定されることから、多様な乳酸発酵食品の製造に資するため、本章では、分離源をまずし等の伝統食品をはじめ、水産食品、畜産食品、農産食品、高山植物やチューリップ等の自然産物など富山県地域資源へ

広げ、多くのGABA生成乳酸菌の探索・分離を試み、その同定およびGABA生成能の検討を行った。

第1節 試料および実験方法

1) 試料

富山県内に植生する植物129検体(高山植物35、稲穂45、桜27、チューリップ22)、県産食品157検体(ますずし等伝統食品30、昆布メ等水産食品19、漬物等農産食品75、ヨーグルト等畜産食品15、味噌・醤油等発酵食品18)を分離源とした。なお、高山植物は環境省の許可を受け、北アルプス立山室堂付近において、植物を採取することなく、滅菌生理食塩水に花卉部分を浸すことにより、菌株の採取を行った。

2) GABA生成菌株の分離

無菌的に採取した試料10gに90mlの滅菌生理食塩水を加え懸濁希釈し、5%のMSGを含むGYP寒天培地(glucose 1g, yeast extract 1g, peptone 0.5g, meat extract 0.2g, Na-acetate · 3 H₂O 1g, MgSO₄ · 7 H₂O 20mg, FeSO₄ · 7 H₂O 1mg, MnSO₄ · 4 H₂O 1mg, NaCl 1mg, Tween80 50mg, agar 1.2g, Bromocresol Purple 0.02g, water 100ml)により30℃で5日間、平板培養を行った。なお、試料によっては共存微生物の成育を抑えるためにシクロヘキシミドとアジ化ナトリウムをそれぞれ10~30ppm添加した³³⁾。培養後、コロニーの形態が異なる乳酸菌を1検体あたり5~10株程度釣菌し、GYP寒天培地に塗布して30℃で1日間培養純化した。次に純化した乳酸菌株を2%(107mM)のMSGを添加したGYP液体培地(ダーラム管入り試験管)に2白金耳接種し、30℃で5日間培養を行った。培養後、生育(混濁)し、試験管内のダーラム管にMSGを脱炭酸する際に発生するガスが充満したものについてグルタミン酸測定キット(ヤマサ醤油(株)製ヤマサL-グルタミン酸測定キット)を用いてグルタミン酸量

を測定した。その結果、グルタミン酸が減少していたものについては、アミノ酸分析計を用いてGABA量を測定し、GABAの生成が認められた菌株をGABA生成菌株とした。

3) グルタミン酸およびGABAの定量分析

培養後のGYP液体培地を0.02N塩酸で1000倍希釈後、0.45μmメンブレンフィルターでろ過し測定試料とした。測定にはアミノ酸分析計(日本電子JLC500)を用い、イオン交換クロマトグラフィーで分離した後に、ニンヒドリン試薬で反応させ可視吸光検出器(回析格子方式・測定波長440、570、690nm)で検出した。プレカラムはLCR-7(4.0mmID×70mmL)、分析カラムはLCR-6(4.0mmID×120mmL)を用いた。分析は生体分析モードで行った。

4) GABA生成菌株の同定分析

分離したGABA生成菌株について16S rRNA遺伝子塩基配列解析による、菌種の同定を行った。16S rRNA遺伝子の塩基配列の決定は、Shidaらの方法³⁴⁾に従って行った。ただし、シークエンス反応試薬にはBig Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems社製)、シークエンサーはABI310(Applied Biosystems社製)を使用した。得られた塩基配列の相同検索はEzTaxon server 2.1(<http://147.47.212.35:8080/>)を用いて、菌種の同定を行った。

5) GABA生成乳酸菌のGABA生成能の検討

分離したGABA生成乳酸菌について、そのGABA生成能を検討した。即ち、下記のように調製したGYP液体培地に分離乳酸菌を10⁵cells/ml接種し、30℃で5日間静置培養後、GABA生成量を測定した。生成したGABAのモル濃度をGYP液体培地に添加したMSGのモル濃度で除してGABA変換率とした。なお、pHは食品添加用90%乳酸で調整した。

① MSG濃度の影響

MSGを50~400mM添加したGYP培地における各株のGABA生成能を検討した。

なお、GYP 培地の初発 pH は7.0とした。

② 培地初発 pH の影響

GYP 培地の MSG 添加量を400mM に固定し、初発 pH4.0～6.0における GABA 生成能を検討した。次に、この検討結果から初発 pH を菌株毎の GABA 生成至適 pH に調整し、MSG 添加量400～800mM における GABA 生成能を検討した。

③ GABA 生成至適 pH 維持培養の効果

培養期間中、24時間毎に培地 pH を菌株毎の GABA 生成至適 pH に調整しながら培養し、MSG 添加量400～800mM における GABA 生成能を検討した。

第2節 実験結果および考察

1) GABA 生成菌株の分離

富山県内に植生する植物や伝統食品など 286検体から1864株の乳酸菌と推定される菌株を分離した。そのうち、GABA 生成能を有していた菌株は4株（株番0910、0912、1001、1005）で、0910株はますずし、0912株は越中味噌、1001株はかぶらずし、1005株はチューリップから分離された。ますずしはマスを酢で味付けした押し寿司、かぶらずしはかぶにサバ、米麴をあわせた富山県の伝統漬物である (Fig. 6)。



Masuzushi



Ettyuu miso



Kaburazushi



Tulip

Fig. 6 The isolate origin of samples

2) 分離 GABA 生成菌株の同定

分離した GABA 生成菌株 4 株の 16S rRNA 塩基配列解析による菌種同定の結果、0910 株は *Lactobacillus brevis* (相 同 率 : 99.7%)、0912 および 1001 株は *Lactobacillus buchneri* (相 同 率 : と 同 じ 99.7%)、1005 株は *Lactococcus lactis* (相 同 率 : 99.5%) と同定された (Table 5)。この結果より、分離した 4 株の GABA 生成菌株をそれぞれ *Lactobacillus brevis* 0910、*Lactobacillus buchneri* 0912、*Lactobacillus buchneri* 1001 および *Lactococcus lactis* 1005 と命名した。

Table 5 Identification of the isolates

Samples	Strain No.	Species	Sequence similarities (%)
Masuzushi	0910	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.7
Miso	0912	<i>Lactobacillus buchneri</i>	99.7
Kaburazushi	1001	<i>Lactobacillus buchneri</i>	99.7
Tulip	1005	<i>Lactococcus lactis</i>	99.5

3) 分離 GABA 生成乳酸菌の GABA 生成能

① MSG 濃度の影響

MSG 濃度 50~400mM、初発 pH7.0 における GABA 生産能を検討した。その結果、*L. brevis* 0910 は MSG 50mM 添加培地で培養後に 50mM の GABA を生成し、100% の変換率を示した。また、100mM 添加培地でも 92mM の GABA を生成し、92% の高い変換率を示したが、200mM 以上添加しても GABA 生成量は 100mM 添加時と変わらず、変換率は 50% 以下となった (Fig. 7)。*L. buchneri* 0912 は MSG 50 および 100 mM 添加培地では 100% の変換率を、200mM 添加培地では 160mM の GABA を生成し、80% の変換率を示したが、300mM 以上添加しても GABA 生成量は 150mM 程度で、変換率は 300mM で 51%、400mM で 38% と大きく低下した (Fig. 8)。*L. buchneri* 1001 は MSG 添加量の増加により GABA 生成量も増加し、50~200mM 添加培地では 100% の変換率を、300 および

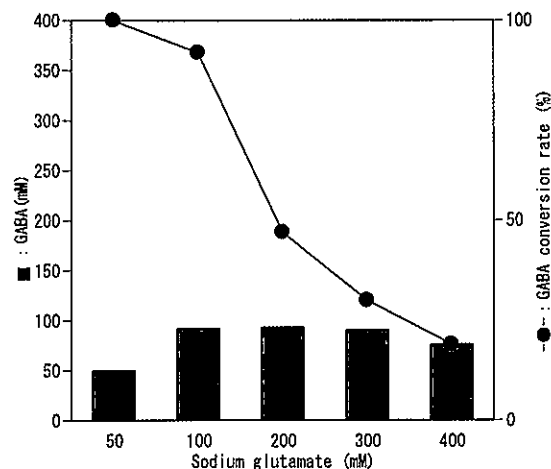


Fig. 7 Effect of sodium glutamate concentration in medium on production of GABA by *L. brevis* 0910. The strain cultivated in GYP medium (pH7.0) containing 50~400mM sodium glutamate for 5 days at 30°C

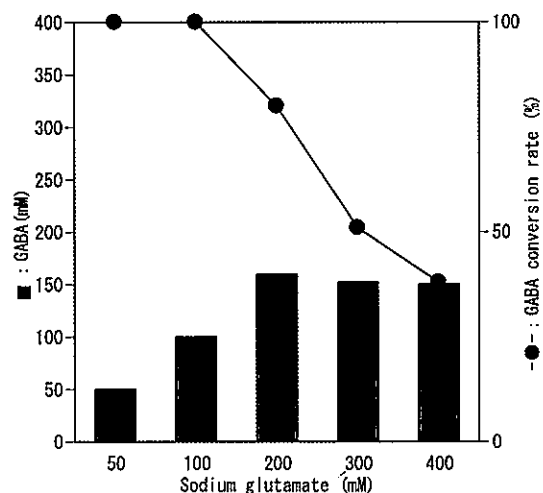


Fig. 8 Effect of sodium glutamate concentration in medium on production of GABA by *L. buchneri* 0912. The strain cultivated in GYP medium (pH7.0) containing 50~400mM sodium glutamate for 5 days at 30°C

400mM 添加培地ではともに 250mM 程度の GABA を生成し、82% および 63% の変換率を示した (Fig. 9)。*L. lactis* 1005 は MSG 50mM 添加培地では 42mM の GABA を生成し、84% の高い変換率を示したが、100mM 以上添加しても GABA 生成量はほとんど増加せず、変換率は大きく低下していた (Fig. 10)。上述の結果から、4 株の乳酸

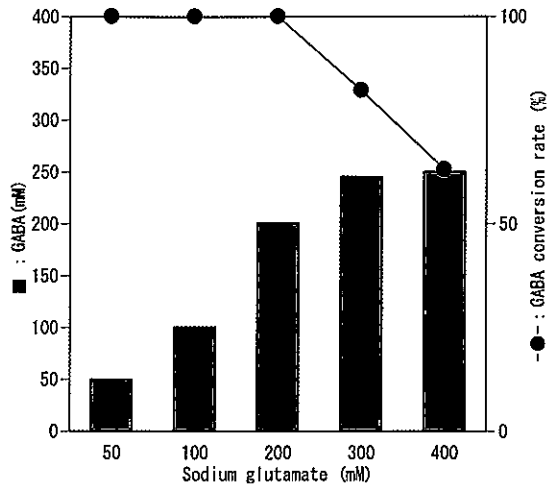


Fig. 9 Effect of sodium glutamate concentration in medium on production of GABA by *L. buchneri* 1001

The strain cultivated in GYP medium (pH7.0) containing 50~400mM sodium glutamate for 5 days at 30°C

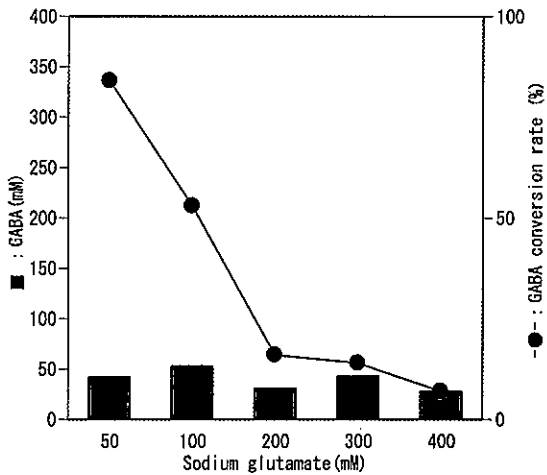


Fig. 10 Effect of sodium glutamate concentration in medium on production of GABA by *L. lactis* 1005

The strain cultivated in GYP medium (pH7.0) containing 50~400mM sodium glutamate for 5 days at 30°C

菌はそれぞれ異なる GABA 生成能を有し、*L. buchneri* 1001が最も GABA 生成能が高く、ついで *L. buchneri* 0912、*L. brevis* 0910の順になり、*L. lactis* 1005の GABA 生成能は非常に低いことが明らかになった。

② 培地初発 pH の影響

高い GABA 生成能が認められた *L. brevis* 0910、*L. buchneri* 0912、*L. buchneri* 1001の 3 株について MSG 濃度を 400mM に固定し、GABA 生成におよぼす初発 pH の影響を検討した。その結果、*L. brevis* 0910は pH5.0で 311mM (GABA 変換率 78%) (Fig. 11)、*L. buchneri* 0912および *L. buchneri* 1001は pH4.5で 298mM (同 75%) および 324mM (同 81%) と多量の GABA を生成した (Fig. 12・13)。3 株とも pH を酸性域に調整することにより GABA 生成量が増加したが、pH4.0では全ての株で GABA の生成は認められなかった。

3 株の GABA 生成における至適 pH が明らかになったことから、次に培地の初発 pH を *L. brevis* 0910は 5.0に、*L. buchneri* 0912および *L. buchneri* 1001は 4.5と各々の至適 pH に調整し、400~800mM の多量の MSG を添加し培養した場合の GABA 生成量について検討した。その結果、*L. brevis* 0910および *L. buchneri* 0912は MSG 濃度を高めても GABA 生成量は増加しなかったが (Fig. 14・15)、*L. buchneri* 1001では GABA 変換率は低下するものの GABA 生成量は増加し、700~800mM の MSG から 370mM の GABA を生成した (Fig. 16)。なお、培養後の培地 pH は全ての試験区で 8.5程度まで上昇しており、pH をコントロールしながら培養することにより、さらに多量の GABA を生成する可能性が示唆された。

③ GABA 生成至適 pH 維持培養の効果

上述の結果から、24時間毎に培地 pH を GABA 生成至適 pH である *L. brevis* 0910 は 5.0に、*L. buchneri* 0912および *L. buchneri* 1001は 4.5に調整しながらの培養を行った。なお、MSG 濃度は 400~800mM に調整した。その結果、*L. brevis* 0910、*L. buchneri* 0912では GABA 生成量の増加はほとんど認められなかったが (Fig. 17・18)、*L.*

buchneri 1001の GABA 生成量は大きく増加し、MSG 600mM 添加で490mM (GABA 変換率81%)、800mM の添加で550mM (同69%) の GABA を生成した (Fig. 19)。培地 pH の調整による GABA 生成量の増加および菌株によって GABA 生成量に差が生じた要因については、菌体量の増加等が考えられ、さらに検討を要するものと思われた。

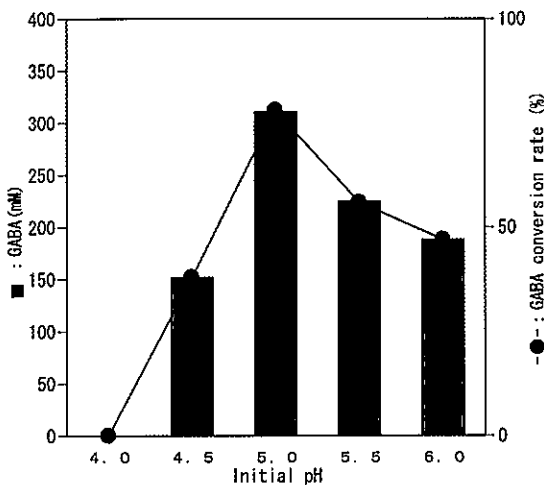


Fig. 11 Effect of medium initial pH on production of GABA by *L. brevis* 0910
The strain cultivated in GYP medium (initial pH4.0~6.0) containing 400mM sodium glutamate for 5days at 30°C

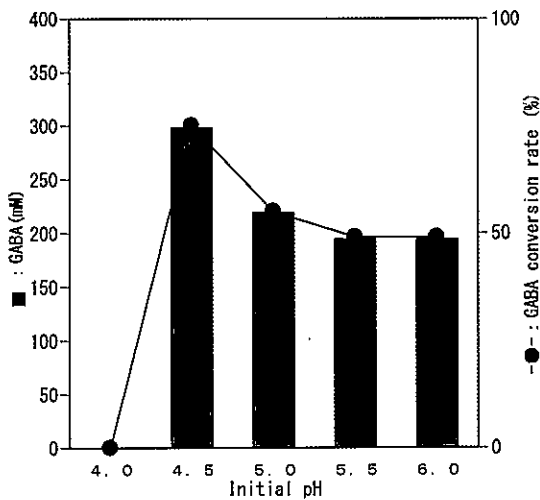


Fig. 12 Effect of medium initial pH on production of GABA by *L. buchneri* 0912
The strain cultivated in GYP medium (initial pH4.0~6.0) containing 400mM sodium glutamate for 5days at 30°C

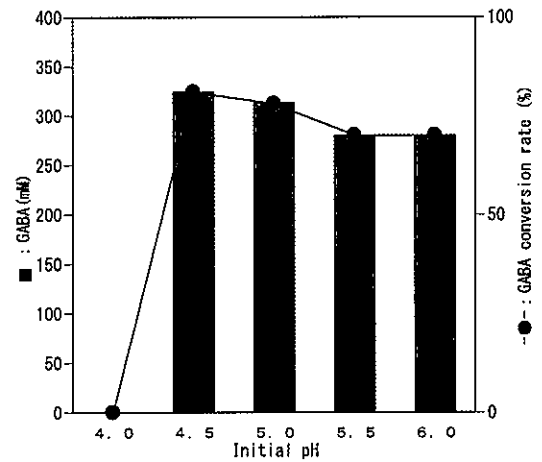


Fig. 13 Effect of medium initial pH on production of GABA by *L. buchneri* 1001
The strain cultivated in GYP medium (initial pH4.0~6.0) containing 400mM sodium glutamate for 5days at 30°C

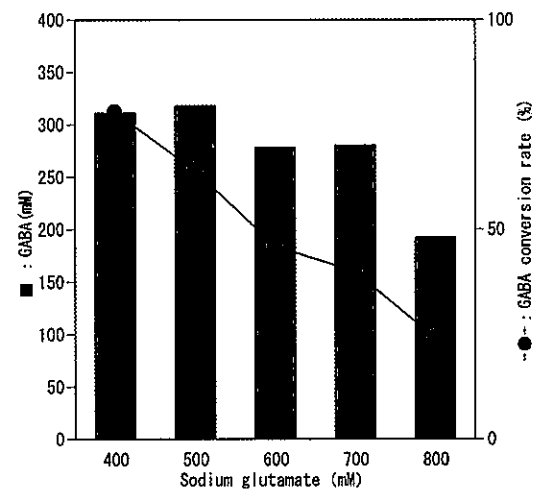


Fig. 14 Effect of sodium glutamate concentration of medium on production of GABA by *L. brevis* 0910
The strain cultivated in GYP medium (initial pH5.0) containing 400mM~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C

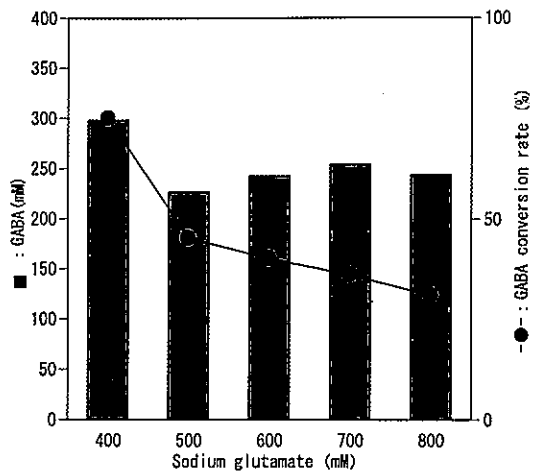


Fig. 15 Effect of sodium glutamate concentration of medium on production of GABA by *L. buchneri* 0912
The strain cultivated in GYP medium (initial pH4.5) containing 400mM ~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C

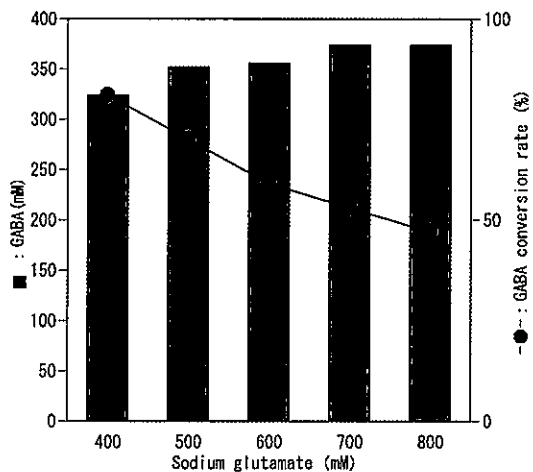


Fig. 16 Effect of sodium glutamate concentration of medium on production of GABA by *L. buchneri* 1001
The strain cultivated in GYP medium (initial pH4.5) containing 400mM ~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C

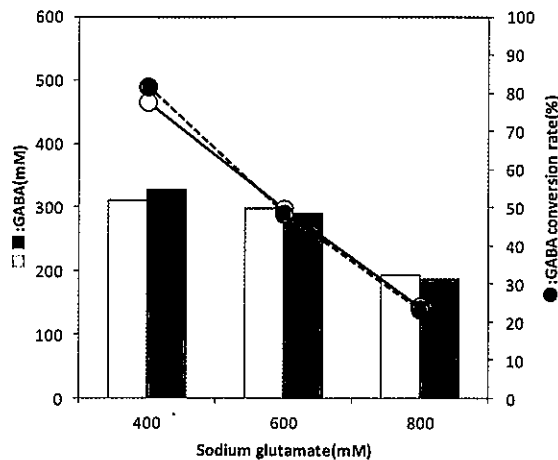


Fig. 17 Effect of constant pH in medium on production of GABA by *L. brevis* 0910
The strain cultivated in GYP medium containing 400mM ~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C
□○ The initial pH of medium was adjusted to 5.0
■● The medium pH was adjusted to 5.0 every 24hr

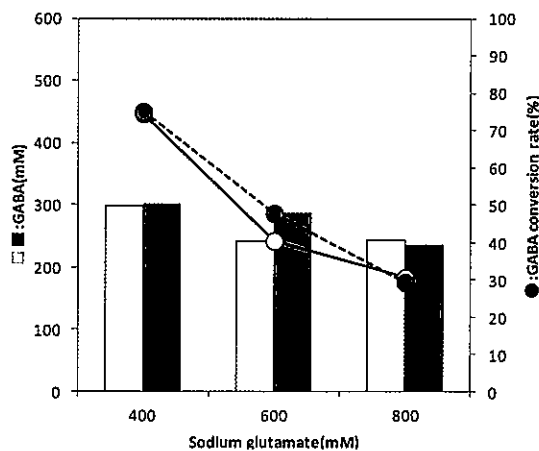


Fig. 18 Effect of constant pH in medium on production of GABA by *L. buchneri* 0912
The strain cultivated in GYP medium containing 400mM ~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C
□○ The initial pH of medium was adjusted to 4.5
■● The medium pH was adjusted to 4.5 every 24hr

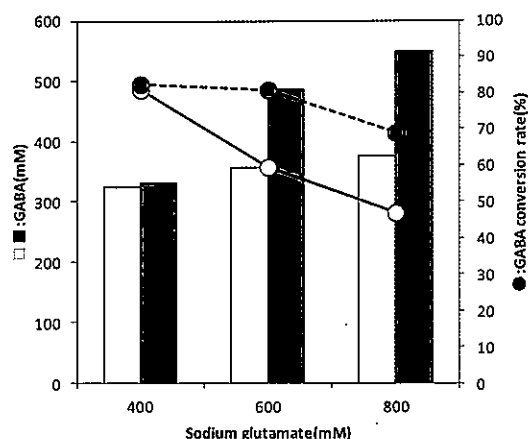


Fig. 19 Effect of constant pH in medium on production of GABA by *L. buchneri* 1001

The strain cultivated in GYP medium containing 400mM ~800mM sodium glutamate for 5days at 30°C

- The initial pH of medium was adjusted to 4.5
 ■● The medium pH was adjusted to 4.5 every 24hr

第3節 小 括

富山県内の伝統食品や自然産物などから GABA 生成乳酸菌の分離を試みた結果、「ますずし」、「越中味噌」、「かぶらずし」および富山県の代表的な花である「チューリップ」より4株の GABA 生成乳酸菌を分離した。これまで分離源である「ますずし」、「越中味噌」、「かぶらずし」、「チューリップ」から GABA 生成乳酸菌を分離した報告はみられない。また、分離乳酸菌1864株に対し、GABA 生成能を有する乳酸菌は4株と非常に少なく、これまでの GABA 生成菌の分離についての報告^{5,6)}と本章の分離結果から、富山県に限らず GABA 生成乳酸菌は食品や自然産物には極めてまれにしか存在しないことが明らかとなった。分離した乳酸菌は「ますずし」由来が *Lactobacillus brevis*、「越中味噌」および「かぶらずし」由来が *Lactobacillus buchneri*、「チューリップ」由来が *Lactococcus lactis* と同定された。*Lactobacillus brevis* は発酵乳、乳酸菌飲料に利用されているヘテロ型乳酸菌であり、比較的多くの GABA 生成についての報告がある^{5,8,35)}。*Lactobacillus buchneri* は

サイレージの好氣的安定性を改良する接種株として使用されるヘテロ型乳酸菌であり、*Lactococcus lactis* は乳製品の製造に広く利用されるホモ型乳酸球菌である³²⁾。今回分離した4株の乳酸菌はそれぞれ異なる GABA 生成能を有しており、*L. brevis* 0910、*L. buchneri* 0912 および *L. buchneri* 1001については高い GABA 生成能が認められ、スターターとして用いた場合、生理機能の発現に十分な GABA 量の生成が可能であることが示唆された。乳酸菌による GABA 生成能はグルタミン酸濃度に関係なく一定の GABA を生成するタイプと、グルタミン酸濃度に依存して GABA を生成するタイプが報告されているが^{5,8)}、今回分離した乳酸菌は *L. brevis* 0910 (ますずし由来)、*L. lactis* 1005 (チューリップ由来) が一定量生産型、*L. buchneri* 0912 (越中味噌由来)、*L. buchneri* 1001 (かぶらずし由来) は濃度依存生産型であった。同じ濃度依存型であっても *L. buchneri* 1001は *L. buchneri* 0912に比べより高い GABA 生成能を有していた。微生物が GABA を生成するのは生育環境の酸性化に対する防御反応であり³¹⁾、本研究でも GABA が生成された培地の pH は8.5程度まで上昇していた。今回分離した乳酸菌のうち、*L. buchneri* 1001は培地を GABA 生成至適 pH の4.5に維持しながら培養することにより、800mM の MSG から 550mM (GABA 変換率69%) と多量の GABA を生成することができた。以上のように分離した乳酸菌4株の GABA 生成特性には大きな差異があった。4株のうち高い GABA 生成能が認められた *L. brevis* 0910、*L. buchneri* 0912 および *L. buchneri* 1001の分離源である食品の pH は、それぞれ4.4、5.6および4.7といずれも酸性食品であった。乳酸菌の GABA 生成能は特定の属種に偏って認められるものではなく、同じ属種でも全く異なっており⁵⁾、それぞれの生育環境に適応して GABA 生成能を獲得していったものと推察された。

第4章 GABA 生成乳酸菌 *Pediococcus acidilactici* TOYAMA の「かぶらずし」への応用

本章では糠漬けから分離した *Pediococcus acidilactici* TOYAMA（以下 PA-TOYAMA と略す）をスターターとして用い、伝統的な漬物である「かぶらずし」を製造した。第2章において PA-TOYAMA は低温増殖性に優れ、pH5.0、塩化ナトリウム2%の条件下で GABA 生成量が増加することが明らかとなった。かぶらずしは5~10℃の低温下で発酵熟成し製造され、その pH は4.4~5.6、塩分は1.0~2.5%であることから³⁸⁾、PA-TOYAMA はかぶらずしのスターターとして適していると考えられ、その利用を検討した。

かぶらずしは北陸地方において冬期に製造される伝統的な発酵食品で、馴れずしの一様である。主原料はかぶ、サバ、米麴で、塩漬けた大かぶに、酢漬けたサバを挟み、これに米麴を混ぜ漬け込み、発酵させ製造される。米麴の糖化による甘みと乳酸発酵による酸味が合わさった独特の風味が特徴である。現在、かぶらずしの製造に乳酸菌スターターは用いられておらず、原材料由来の乳酸菌³⁹⁾による発酵により、その風味が醸成される。かぶらずしに関する研究は、そのほとんどが成分や食味などの特徴を検討したものであり³⁷⁻³⁸⁾、乳酸菌スターターを用いて製造した事例はこれまで報告されていない。そこで、本章では富山県産食品から分離された GABA 生成乳酸菌 PA-TOYAMA をスターターとして、かぶらずしを製造し、その性状および品質について検討を行った。

第1節 試料および実験方法

1) かぶらずしの調製

乳酸菌スターターとして第2章で糠漬けから分離した PA-TOYAMA を供試した。培養には MRS 培地を用い、30℃、24時間静置培養後、遠心分離（3000rpm、10分間）で集菌し、滅菌生理食塩水で2回洗浄を行い、濁度

を指標に 10^8 cells/ml に調整したものを接種用スターター溶液とした。かぶらずしの製造は Fig. 20の方法および Table 6の配合に従って行った。即ち、前処理として富山県産早生大かぶを洗浄・剥皮後、厚さ20mmにスライスし、これに食塩を5%添加して5℃で3日間塩漬け後、溶出した水を廃棄した。サバは生サバを三枚に下ろし、等量の食塩を添加して5℃で3日間塩漬け後、食塩を水洗い除去し、一晚酢漬けにした。米麴はかぶらずし用乾燥米麴（南日味噌醤油株式会社製）を用い、加水後50℃で6時間糖化させた米麴に蒸米を等量混ぜ、さらに食品添加用グルタミン酸ナトリウム（仕上がり総重量の1%）と乳酸菌スターターを 10^7 cells/gになるように添加・混合した。前処理終了後、かぶ（3.0kg）に切り込みを入れ、スライスしたサバ（0.3kg）を挟み込み、米麴（1.0kg）を合わせた後、重しをして10℃で8日間発酵させ、かぶらずしを得た。発酵期間中、毎日サンプリングを行い、以後の試料とした。なお、スターターとして PA-TOYAMA を添加した試験区を PA-TOYAMA 区、スターターを添加しなかった試験区をコントロール区とした。

2) 微生物の計測

試料10gに90mlの滅菌生理食塩水を加えホモジナイズしたものについて、乳酸菌数は BCP 加プレートカウント寒天培地（ニッスイ）を用い37℃で72時間、黄色ブドウ球菌は卵黄加マンニット食塩寒天培地（ニッスイ）を用い37℃で36時間、大腸菌は EC 培地（ニッスイ）を用い44.5℃で24時間、サルモネラは DHL 寒天培地（ニッスイ）を用い37℃で24時間、それぞれ培養し、得られたコロニー数を計測した。なお、黄色ブドウ球菌の検出限界は 10^2 CFU/g、大腸菌およびサルモネラは10 CFU/gである。

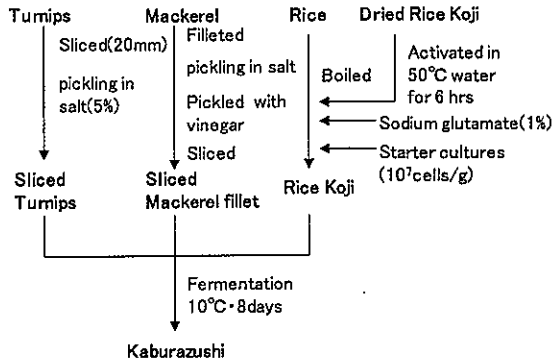


Fig. 20 Preparation of the Kaburazushi

Table 6 Materials for preparation of the Kaburazushi

Materials	Weight(g)
Sliced Turnips	3,000
Sliced Mackerel fillet	300
Rice Koji	1,000
Dried Rice Koji	200
Boiled rice	500
Water	300
Sodium glutamate	43
Total	4,343

3) 遊離アミノ酸量の測定

試料 2～3 g に 6% トリクロロ酢酸を 30ml 加えホモジナイズ後、遠心分離 (3000rpm、10分間) し、上澄を採取した。この操作を 3 回繰り返した後、90% 水酸化カリウムを用い pH を 2.0 に調整後 50ml に定容し、0.45 μm フィルターでろ過したろ液をアミノ酸分析計 (日本電子 JLC500) により分析した。分析条件は前述 (第 3 章、第 1 節、3)) と同条件で行った。なお、総遊離アミノ酸量はタンパク質を構成するアミノ酸のうち、製造時に添加したグルタミン酸を除く 19 種類のアミノ酸 (Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Ser、Thr、Asp、Asn、Gln、Lys、Arg、Cys、Met、PHe、Tyr、Trp、His、Pro) の総量とした。

4) 有機酸量の測定

有機酸量は遊離アミノ酸測定で用いた検液

を有機酸分析システム (高津製作所) により分析した。分離はイオン排除クロマトグラフィーで、カラムは Shim-pack SCR-101H (8.0mmID×300mmL) および SCR-102H (7.9mmID×300mmL) を、検出にはポストカラム pH 緩衝化電気伝導度検出法を、溶離液には 5 mM p-トルエンスルホン酸を用い、流速 0.8 mL/min で溶出し検出した。

5) pH の測定

乳酸菌の測定で用いたホモジネート試料をろ過後、ろ液を pH メーター (堀場製作所製 M-12) で測定した。

6) 官能試験

発酵 6、7 および 8 日目のかぶらずしの食感、味覚および香りについて、かぶらずしの食味試験に精通している 3 名のパネラーにより評価した。

第 2 節 実験結果および考察

1) 乳酸菌数の経時変化

Fig. 21 に発酵期間中における乳酸菌数の経時変化を示した。発酵開始時、コントロール区は原料由来と考えられる乳酸菌が 1.8×10^3 CFU/g 存在し、発酵 1 日目から経

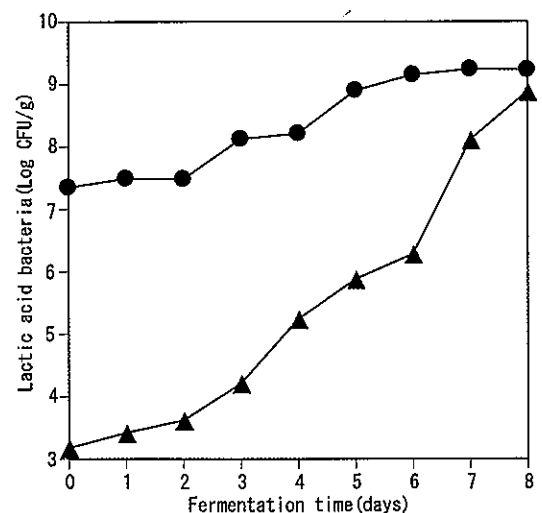


Fig. 21 Changes in lactic acid bacterial counts during fermentation of Kaburazushi
 ●-PA-TOYAMA ▲-Control

時的に増殖が見られ、発酵7日目から急速に増殖し、8日目には 8.8×10^7 CFU/gとなった。一方、PA-TOYAMA区は目標接種量どおりに発酵開始時の乳酸菌数は 10^7 CFU/gレベルにあり、発酵3日目から増殖が見られ、6日目に 10^9 CFU/gレベルとなり、8日目までこの菌数を維持した。このことから、PA-TOYAMAは今回実施したがぶらずしの製造条件（発酵温度 10°C ）において増殖が可能であることが明らかになった。

2) GABA、グルタミン酸量および遊離アミノ酸量の経時変化

Fig. 22に発酵期間中におけるGABA量と

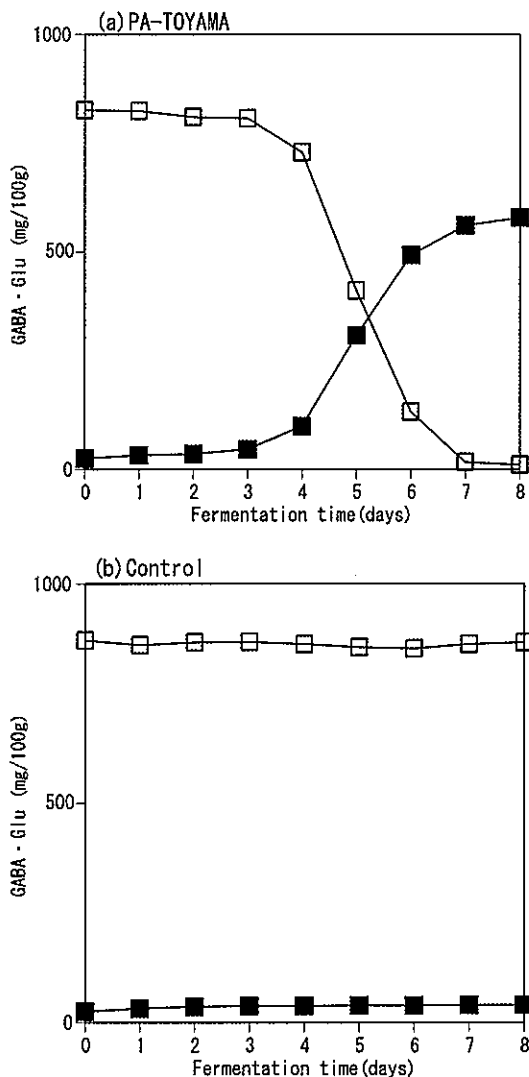


Fig. 22 Changes in GABA and Glutamic acid contents during fermentation of *Kaburazushi*
 -■-GABA、-□-Glutamic acid

グルタミン酸量の経時変化を示した。PA-TOYAMA区 (Fig. 22a) は発酵4日目からGABAの生成が見られ、生成量は経時的に増加し、5日目で $308\text{mg}/100\text{g}$ 、6日目で $493\text{mg}/100\text{g}$ 、7日目で $561\text{mg}/100\text{g}$ となり、8日目では $580\text{mg}/100\text{g}$ のGABAが生成された。一方、グルタミン酸量はGABAの生成とともに

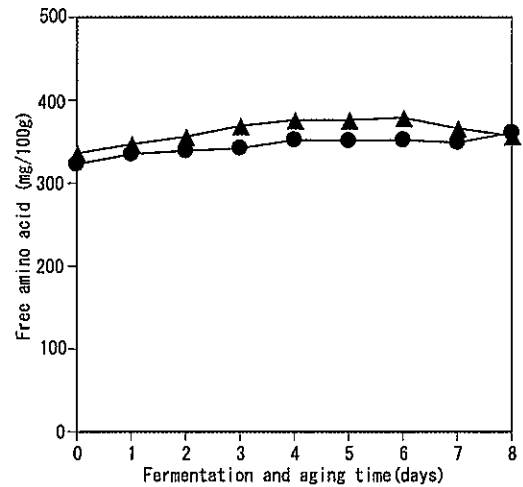


Fig. 23 Changes in the total amount of free amino acid* during fermentation of *Kaburazushi*
 *:without glutamic acid -
 ●-PA-TOYAMA ▲-Control

Table 7 Free amino acid content of *Kaburazushi**

	PA-TOYAMA	Control
Asp	39	44
Thr	18	21
Ser	26	27
Asn	4	3
Gly	21	19
Ala	36	36
Val	31	32
Cys	1	1
Met	10	11
Ile	23	24
Leu	42	41
Tyr	26	13
Phe	23	23
His	19	18
Lys	26	25
Arg	0	2
Hypro	0	0
Pro	16	17
Total	361	357

* : *Kaburazushi* was fermented at 10°C for 8days

(mg/100g)

に減少し、発酵7日目にはほぼ全てのグルタミン酸がGABAに変換された。一方、コントロール区 (Fig. 22b) ではGABAの生成は認められず、グルタミン酸量にも変化は見られなかった。このことから、PA-TOYAMAはかぶらずし中において、高いGABA生成能を有することが明らかとなった。

グルタミン酸を除く総遊離アミノ酸量の経時変化を Fig. 23に示した。製造直後は両区ともに330mg/100gであり、発酵8日目ではPA-TOYAMA区が361mg/100g、コントロール区が357mg/100gと、発酵期間中ほとんど増減は認められなかった。個々のアミノ酸についても発酵中の増減は小さく、PA-TOYAMA区とコントロール区との間には差は認められなかった (Table 7)。

3) 有機酸組成と乳酸量の経時変化

Table 8に発酵8日目のPA-TOYAMA区、コントロール区の有機酸組成を示した。乳酸、クエン酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸が検出され、このうち、乳酸と酢酸が、95%以上と有機酸の大半を占めることが明らかとなった。両区の間には乳酸量に大きな差があり、コントロール区の422mg/100gに対し、PA-TOYAMA区は2倍以上の938mg/100gとなった。クエン酸、リンゴ酸、フマル酸についてはPA-TOYAMA区が多く、酢酸、コハク酸はコントロール区の方が多く、酒石酸については両区に差は認められなかった。有機酸の総量は乳酸量の差が反映されPA-TOYAMA区が1112mg/100gとコントロール区 (593mg/100g) に比べ多くなった。富山県内の市販かぶらずしの乳酸量は、最も少ない製品で、12.5mg/100g、多い製品で654.9mg/100gと報告されており³⁸⁾、PA-TOYAMA区は市販製品に比べ、乳酸量が多く、酸味の強いものとなった。

Fig. 24に発酵期間における乳酸量の経時変化を示した。PA-TOYAMA区は発酵2日目より乳酸が生成され、発酵日数が進むに従い増加し、4日目以降に著しい増加がみられ、

6日目には470mg/100g、7日目は620mg/100g、8日目は938mg/100gとなった。一方、コントロール区は発酵6日目から乳酸が生成され、発酵7日目に急激に増加し328mg/100g、8日目は422mg/100gとなった。このようにPA-TOYAMA区はコントロール区に比べ、発酵期間中の乳酸量は常に高く推移していた。

Table 8 Organic acid content of *Kaburazushi* *

	Lactic acid	Citric acid	Acetic acid	Malic acid	Tartaric acid	Succinic acid	Fumaric acid	Total
PA-TOYAMA	938	19.6	125	19.1	5.0	3.7	1.9	1112
Control	422	2.1	148	5.3	5.1	9.5	0.7	593

*: *Kaburazushi* was fermented at 16°C for 8 days (mg/100g)

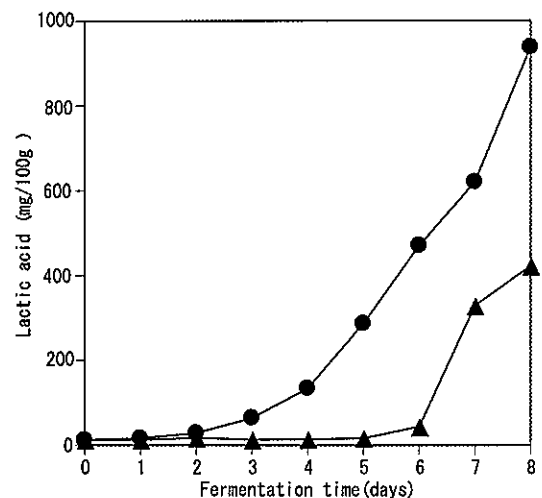


Fig. 24 Changes in lactic acid content during fermentation of *Kaburazushi* ●-PA-TOYAMA ▲-Control

4) pHの経時変化

Fig. 25に発酵期間におけるpHの経時変化を示した。製造直後のpHは両区とも5.9であった。PA-TOYAMA区は発酵1日目からpHが低下し、発酵4日目まで5.1まで低下した。4日目から6日目にかけてのpH低下は、一時緩慢になったが、7日目以降は再び大きく低下し、8日目のpHは4.5となった。コントロール区は発酵5日目まではpHの低下は見られず、6日目以降急激に低下し、8日目のpHはPA-TOYAMA区より低い4.3となった。

pHの低下と乳酸の生成 (Fig. 24) は連動しており、コントロール区では6日目から乳酸生成量が大きく増加していることから、pHの急激な低下が起きたと推察された。PA-TOYAMA区はコントロール区に比べて乳酸生成量は多いものの、発酵4日目から6日目にGABAの生成が進み (Fig. 22a)、GABA生成時のグルタミン酸の脱炭酸によるpH上昇作用³⁰⁾によりpH低下が緩慢になり、その後、7日目にグルタミン酸が全てGABAに変換されたことにより (Fig. 22a)、pHは再び大きく低下したものと推察された。

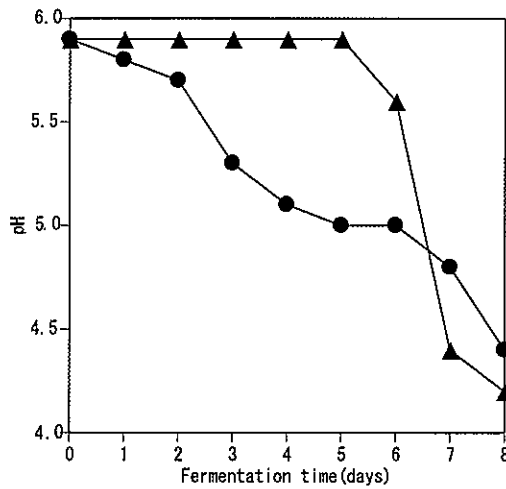


Fig. 25 Changes in pH values during fermentation of *Kaburazushi*
 ●-PA-TOYAMA ▲-Control

5) 官能評価

発酵6、7および8日目のかぶらずし (PA-TOYAMA区) について官能試験を実施した。その結果、全てのかぶらずしで腐敗は認められず、外観、歯触り、味、風味とも良好であった。発酵6および7日目のものは、米麴の甘みとすっきりとした爽やかな酸味のバランスが良好で高い評価が得られた。8日目のものは、乳酸の酸味が強く感じられ、発酵6および7日目に比べ、評価が低くなった。この結果から、PA-TOYAMAをスターターとして用いたかぶらずしの発酵期間は6~7日間が適当であると推察された。

6) 安全性の評価

発酵8日目までのかぶらずしから食中毒菌 (黄色ブドウ球菌、大腸菌、サルモネラ) は検出されず、安全性が確認された。



Fig. 26 *Kaburazushi**
 *:Kaburazushi was fermented at 10°C for 8days

第3節 小括

富山県産の糠漬けより分離されたGABA生成乳酸菌 *Pediococcus acidilactici* TOYAMAをスターターとして、富山県の伝統的な漬物であるかぶらずしを製造した (Fig. 26)。かぶらずしのGABA含量は580mg/100gとなり、市販かぶらずし (富山県内13社18製品の平均45mg/100g) に比べ多量のGABAを含有していた。また、試作したかぶらずしの乳酸量は938mg/100gと、市販製品 (12.5mg~654.9mg/100g) に比べ多く、酸味の強い製品となった。官能試験の結果、外観、歯触り、味、風味とも良好で、米麴の甘みとすっきりとした爽やかな酸味のバランスが調和した、市販品の醸成タイプと遜色のないものとなった。また、製造したかぶらずしから食中毒菌は検出されず、安全性が確認された。発酵期間については、GABAの生成時期と官能試験の結果より、7日間が適当であると考えられた。以上の結果から、PA-TOYAMAをスターターとして用いることにより、多量のGABAを含有し、嗜好性にも優れたかぶらずしの製造が可能になることが明らかになった。今後、実用化に向けた製品開発が期待される。

第5章 GABA 生成乳酸菌 *Lactobacillus brevis* 0910、*Lactobacillus buchneri* 1001の非加熱発酵ソーセージへの応用

本章では分離した GABA 生成乳酸菌を用いて GABA 含量を高めた非加熱発酵ソーセージの製造を試みた。非加熱発酵ソーセージはヨーロッパの伝統的な食肉製品であり、近年、国内においても需要が高まっている。非加熱発酵ソーセージは原料肉に豚脂肪、食塩、亜硝酸塩、香辛料、糖とともに乳酸菌スターターを加え、ケーシングに充填し、加熱せず発酵させて製造する。発酵期間中に乳酸菌による乳酸生成により pH が急速に低下し、有害微生物の成育を阻止するとともに、独特の風味とテクスチャーが付与される。古くから発酵ソーセージのスターターとして *Lactobacillus plantarum* などが利用されているが、スターターカルチャーの種類によって風味や色調などが異なる独特の製品となることが知られている。これまで乳酸菌をスターターとした発酵ソーセージについての報告は多いが³⁹⁻⁴⁶⁾、GABA 生成乳酸菌をスターターとして用いた報告はない。そこで、第3章において富山県の地域資源から分離した GABA 生成乳酸菌のうち、GABA の生成量が一定量生産型の *L. brevis* 0910 と濃度依存生産型の *L. buchneri* 1001 をそれぞれスターターとして用いて非加熱発酵ソーセージを製造し、その GABA 生成量をはじめとする性状および品質について検討した。

第1節 試料および実験方法

1) スターターカルチャーの調製

富山県産食品から分離した GABA 生成乳酸菌 2 株、*Lactobacillus brevis* 0910 (ますずしより分離)、*Lactobacillus buchneri* 1001 (かぶらずしより分離) および発酵食肉製品のスターターとして広く用いられている *Lactobacillus plantarum* (協和ハイフーズ社製 LPT: 漬物、発酵ソーセージ用) を供試菌株として用いた。培養には MRS 培地を用い、

L. brevis 0910 と *L. buchneri* 1001 は増殖が緩慢であることから 30°C で 48 時間、*L. plantarum* は 30°C で 24 時間それぞれ静置培養した。培養後、遠心分離 (3000rpm、10 分間) で集菌し、滅菌生理食塩水で 2 回洗浄を行い、濁度を指標に 10^8 cells/ml に調整したものを接種用スターター溶液とした。

2) 発酵ソーセージの調製

発酵ソーセージは Fig. 27 の方法および Table 9 の配合に従って調製した。即ち、3 mm 目のプレートを付したチョッパーを用いて挽いた豚もも肉と角切り豚背脂肪、食塩、亜硝酸ナトリウム、食品添加用グルタミン酸ナ

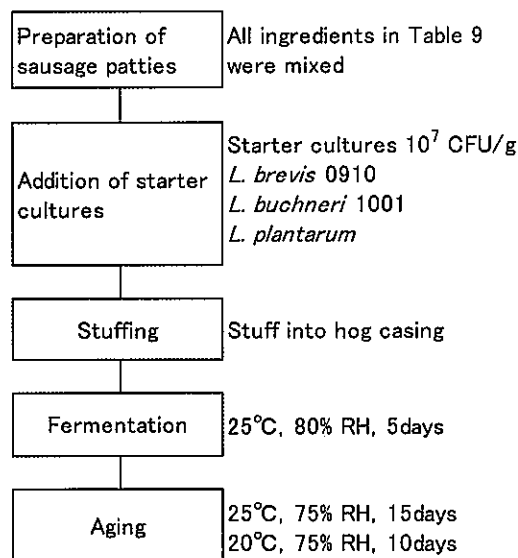


Fig. 27 Preparation of fermented sausages

Table 9 Ingredients of fermented sausage

Ingredients	Rate
Lean pork	90.0%
Pork fat	10.0%
Sodium chloride	2.0%
Sodium nitrite	0.01%
Sodium glutamate	2.0%
Glucose	1.0%
Spice	0.8%

トリウム、グルコースをミートミキサーで十分に混合した。次に3種の乳酸菌スターター溶液を 10^7 cells/gになるように添加混合後、豚腸に充填してソーセージを調製した。ソーセージは恒温恒湿器 (タバイエスベック社製 PR-2KP) 内に懸吊し、温度 25°C 、湿度80%で5日間発酵を行い、続いて温度 25°C 、湿度75%で15日間、さらに温度 20°C 、湿度75%で10日間熟成を行った。発酵熟成期間中は懸吊場所による発酵の偏りを防ぐため、毎日1回、懸吊場所の入れ換えを行った。発酵熟成期間中の0、1、3、5、7、10、15、20、25および30日目に発酵ソーセージを取り出し、以後の試験に供した。なお、スターターとして *L. brevis* 0910を添加した試験区を「*L. brevis* 0910区」、*L. buchneri* 1001を添加した試験区を「*L. buchneri* 1001区」、*L. plantarum*を添加した試験区を「*L. plantarum* 区」、スターターを添加しなかった試験区を「コントロール区」とした。

3) 水分量の測定

試料3~5gを細切したものを、常圧加熱乾燥法 (135°C 、2時間) で測定した。

4) 微生物数の計測

前述、第4章、第1節、2)と同様の方法で計測した。ただし、乳酸菌数はシクロヘキシミドとアジ化ナトリウムを10ppm添加したBCP加プレートカウント寒天培地(ニッスイ)を用いた。

5) 乳酸量の測定

GABA、グルタミン酸、総遊離アミノ酸量の測定で用いた検液を有機酸分析システム (島津製作所) により分析した。分析条件は前述 (第4章、第1節、4))と同様とした。

6) pHの測定

微生物測定で用いたホモジネート試料をろ過後、ろ液をpHメーター (堀場製作所製 M-12) で測定した。

7) GABA、グルタミン酸、総遊離アミノ酸量の測定

前述、第4章、第1節、3)と同様の方法

で測定した。

8) 色調の測定

試料を厚さ10mmに切断し、その切断面の L^* (明度)、 a^* (赤色度)、 b^* (黄色度) および C^* (彩度) を色彩計 (島津製作所 CLR-7100F) により測定した。

9) 破断強度の測定

プランジャーによる破断強度の測定を行った。即ち、レオナー (山電 RE-3305) を用い、厚さ20mmに切断した円柱状試料の中心に、直径3mmの球状プランジャーを試料厚の75%まで貫入した際の最大荷重を測定した。なお、プランジャーの貫入速度は60mm/minとした。

10) 外観観察

発酵熟成30日目のソーセージについて、スライスし、断面を実体顕微鏡 (キーエンス デジタルマイクロスコープ VHX-100) を用いて観察した。

11) 官能試験

コントロール区を除く3区の発酵熟成30日目の試料を厚さ2mmにスライスしたものについて、10人のパネラーにより、外観、香り、酸味、かたさおよび総合の5項目における評価を、大変良い: 5点、良い: 4点、普通: 3点、悪い: 2点、大変悪い: 1点の5段階評価法により実施した。

第2節 実験結果および考察

1) 水分量の経時変化

Fig. 28に発酵熟成期間におけるソーセージの水分量の経時変化を示した。4試験区間にほとんど差は認められず、いずれも発酵開始時は約65%の水分を含有していたが、発酵熟成7日目まで急激に減少し約23%となった。発酵熟成7日目以後の変化は殆どなく、全発酵熟成期間を通してスターターによる水分量の差は認められなかった。

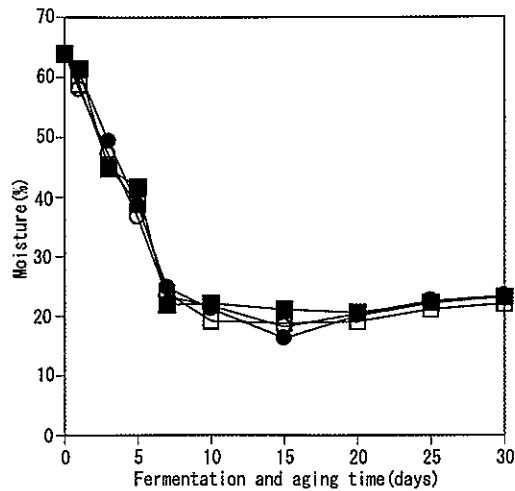


Fig. 28 Changes in moisture content during fermentation of sausages

●- *L. brevis* 0910 ○- *L. buchneri* 1001
■- *L. plantarum* □- Control

2) 乳酸菌数の経時変化および食中毒菌の検出

Fig. 29に発酵熟成期間におけるソーセージの乳酸菌数の経時変化を示した。発酵開始時、コントロール区は原料由来と考えられる乳酸菌が 1.7×10^4 CFU/g存在していた。一方、乳酸菌スターターを添加した3区は目標接種量どおりに発酵開始時の乳酸菌数は 10^7 CFU/gレベルとなった。*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区および*L. plantarum* 区の乳酸菌数は発酵熟成期間中ほぼ同様に推移し、発酵1日目に 10^8 CFU/gレベルに増殖し、3日目に 10^9 CFU/gレベルに達した。それ以後は発酵熟成が進むのに伴い徐々に減少し、30日目の乳酸菌数は*L. brevis* 0910区が 7.0×10^6 CFU/g、*L. buchneri* 1001区が 1.8×10^7 CFU/g、*L. plantarum* 区が 1.2×10^6 CFU/gとなった。コントロール区では発酵3日目に 10^6 CFU/gレベルまで増殖し、その後、徐々に減少し、30日目の菌数は 4.0×10^5 CFU/gとなった。発酵ソーセージのスターターとしての乳酸菌には、発酵初期に急激に増殖し、ソーセージ中で優勢な菌叢を占めることが求められ⁴⁰⁾、*L. plantarum* はその能力が高いことから、ソーセージスターターとして広く利用されている。今回使用した2株のGABA生成乳酸菌は*L. plantarum*と同様に

発酵初期に大きく増殖した。この2株のGABA生成乳酸菌は食肉製品由来ではなく、ますずし、かぶらずしから分離された乳酸菌であるが、ソーセージ中での増殖が可能であった。なお、黄色ブドウ球菌、大腸菌、サルモネラについては原料肉および発酵熟成期間中に検出されなかった(データ省略)。

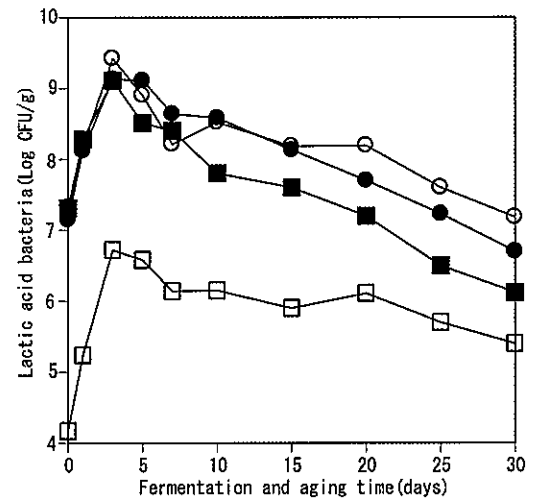


Fig. 29 Changes in lactic acid bacterial counts during fermentation of sausages

●- *L. brevis* 0910 ○- *L. buchneri* 1001
■- *L. plantarum* □- Control

3) 乳酸量の経時変化

発酵熟成期間におけるソーセージの乳酸量の経時変化をFig. 30に示した。なお、発酵ソーセージは熟成とともに水分が減少するため、乾物100gあたりの値で表示した。全試験区とも発酵開始時の乳酸量は約1600mgであった。*L. plantarum* 区は速やかに乳酸が生成され、発酵1日目に約2700mg、3日目に約4000mgとなり、以後は変化が認められなかった。一方、*L. brevis* 0910区および*L. buchneri* 1001区は経時変化の傾向に差はなく、発酵3日目に約2500mg、5日目に約3000mgとなり、以後は変化が認められなかった。コントロール区は発酵熟成期間を通して少量の乳酸しか生成しなかった。以上の結果、*L. plantarum* 区では発酵3日目までに速やかに多量(約2400mg)の乳酸が生成されたのに対し、GABA生成乳

酸菌添加区において乳酸量が最大になったのは発酵5日目と生成が遅く、かつ生成量も約1400mgと *L. plantarum* 区の6割程度となった。2株のGABA生成乳酸菌はソーセージ中で *L. plantarum* と同程度の増殖能力を有するものの (Fig. 29)、*L. plantarum* より乳酸生成量は少なく、また生成速度が遅いことが明らかになった。

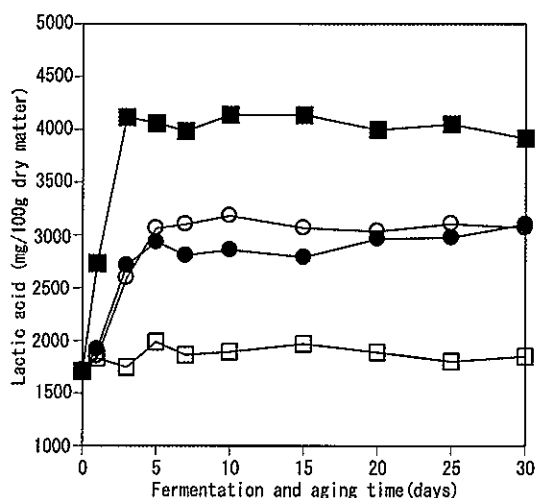


Fig. 30 Changes in lactic acid content during fermentation of sausages
 ●- *L. brevis* 0910 ○- *L. buchneri* 1001
 ■- *L. plantarum* □- Control

4) pHの経時変化

発酵熟成期間におけるソーセージのpHの経時変化を Fig. 31に示した。全試験区とも発酵開始時のpHは6.1であった。*L. plantarum* 区は発酵1日目から速やかにpHが低下し、発酵3日目にpH5.1となり、以後はそのpHを維持した。*L. brevis* 0910区は発酵3日目までにpH5.3まで低下したが、5日目から上昇に転じ、7日目に5.7となり、以後はそれを維持した。*L. buchneri* 1001区は発酵1日目にpH5.8まで低下したが、3日目から上昇し、5日目には6.7となり、以後はそのpHを維持した。コントロール区は3日目までにpH5.7まで低下し、その後はそれを維持した。*L. plantarum* 区のように、通常、乳酸菌スターターを添加し発酵させると、乳酸菌による乳酸生成のためpHは急速に低下し、発酵熟成

全期間中、低pH状態が維持される。しかし、GABA生成乳酸菌添加区ではpHの上昇がみられた。これはGABA生成乳酸菌が乳酸を生成するものの (Fig. 30)、GABA生成時のグルタミン酸脱炭酸によるpH上昇³¹⁾が乳酸によるpH低下に優ったためと推察された。発酵ソーセージ製造において、pHの上昇は食中毒菌の増殖の要因となる可能性が指摘されている⁴⁰⁻⁴³⁾。*L. brevis* 0910区の場合、最終pHが5.7と問題はないと考えられたが、GABA生成能のより優れた *L. buchneri* 1001区の場合、最終pHが6.7と高いことから、*L. buchneri* 1001をスターターとして用いる場合は、原料肉への乳酸の添加等によりpHを低下させる操作が必要になると考えられた。

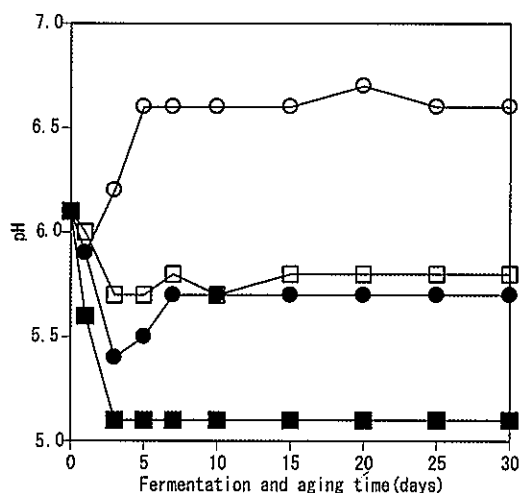


Fig. 31 Changes in pH values during fermentation of sausages
 ●- *L. brevis* 0910 ○- *L. buchneri* 1001
 ■- *L. plantarum* □- Control

5) GABAおよびグルタミン酸量の経時変化

Fig. 32に発酵熟成期間におけるソーセージのGABA量とグルタミン酸量の経時変化(乾物100gあたり)を示した。*L. brevis* 0910区は発酵3日目からGABAの生成が見られ生成量は徐々に増加し、30日目のGABA量は600mgとなった。グルタミン酸はGABAの生成量の増加にともない減少したが、30日目でも3500mgが残存していた (Fig. 32a)。*L. buchneri* 1001区は発酵1日目からGABAが

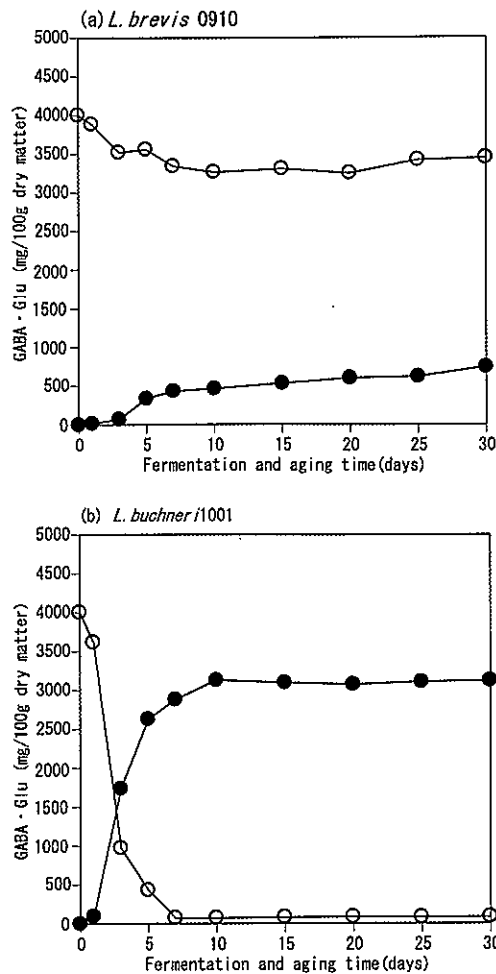


Fig. 32 Changes in GABA and Glutamic acid content during fermentation of sausages
 ●-GABA, ○-Glutamic acid

生成され、3日目に1800mgまで著しく増加し、発酵熟成10日目に3000mgのGABAが生成され、それ以後は変化が認められなかった。発酵開始時に4000mgあったグルタミン酸は、GABAの生成とともに急激に減少し、発酵熟成7日目には40mgとなり、ほぼ全てのグルタミン酸がGABAに変換された (Fig. 32b)。上述の結果より、*L. brevis* 0910区と*L. buchneri* 1001区においてGABA生成量に大きな差が認められ、これはGYP液体培地でのGABA生成量の差 (Fig. 7・9) よりも大きかった。GYP液体培地においてpHを酸性に維持しながら培養した場合、*L. brevis* 0910は殆どGABA生成量に変化が認められなかったのに対し (Fig. 17)、*L. buchneri*

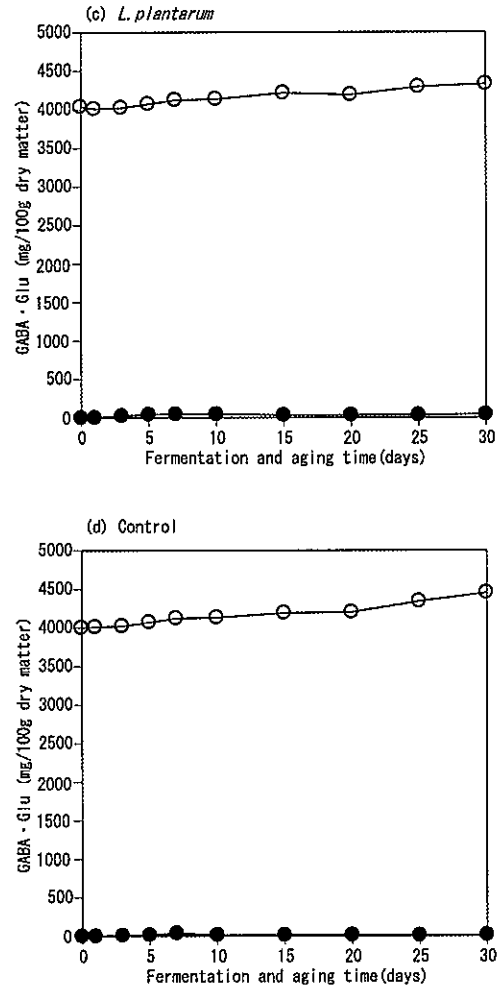


Fig. 32 Changes in GABA and Glutamic acid content during fermentation of sausages
 ●-GABA, ○-Glutamic acid

1001は大きく生成量が増加しており (Fig. 19)、このpHに対するGABA生成能の差が2区間でGABA生成量に大きな差が生じた要因と推察された。一方、*L. plantarum* 区およびコントロール区ではGABAの生成は認められなかったが、発酵熟成30日目のグルタミン酸量は発酵開始時に比べ300~500mg増加していた (Fig. 32c・d)。これは熟成による肉タンパク質の分解によりグルタミン酸が生成したのが原因と考えられた。以上の結果より、今回供試した2株のGABA生成乳酸菌は、発酵ソーセージ中においてGABAを生成する能力があり、なかでも*L. buchneri* 1001は添加したグルタミン酸のほとんどをGABAに変換しており、発酵ソーセージ中において高

いGABA生成能を有することが明らかになった。GABAを含有する発酵乳による血圧降下作用については、1日12.3mgのGABA摂取により正常高値血圧者に対して降圧効果が認められ¹⁴⁾、抗ストレス作用は50mg¹³⁾の摂取が必要との研究事例があり、GABA生成乳酸菌をスターターとして用いた発酵ソーセージのGABA含量はそれら生理作用の発現に十分な量であった。

6) 総遊離アミノ酸量の経時変化

発酵ソーセージは熟成中にタンパク質がプロテアーゼにより分解され、遊離アミノ酸量が増加し、呈味性が向上する。そこで、発酵熟成期間におけるグルタミン酸を除いた総遊離アミノ酸量（乾物100gあたり）の経時変化をFig. 33に示した。発酵開始時の総遊離アミノ酸量は約450mgであったが、各区とも発酵熟成10日目まで著しく増加し、その後は徐々に増加する傾向を示した。しかし、スターターの種類によって、その増加量は異なり、発酵熟成30日目の総遊離アミノ酸量は*L. buchneri* 1001区が約2300mgと最も多く、次いで*L. brevis* 0910区の約2200mg、コントロール区の約2000mg、*L. plantarum* 区の約1800mgの順となった。このようにスターターによって遊離アミノ酸量に差が生じた要因としては、熟成中のpHがプロテアーゼ活性に影響を及ぼしたことが推察されるが、乳酸菌が生産するプロテアーゼの活性は豚肉中のプロテアーゼ活性の1%未満であるとの報告から⁴⁰⁾、発酵熟成中のpH変動の差が主に肉由来のプロテアーゼ活性に影響したものと考えられた。30日目の遊離アミノ酸組成を分析した結果、各区ともほとんどのアミノ酸は増加していたが、*L. plantarum* 区はAsp、Thr、Ser、Proの増加量が少なく、この差が他区に比べ総遊離アミノ酸量が低い値を示す結果に繋がったと考えられた (Table10)。

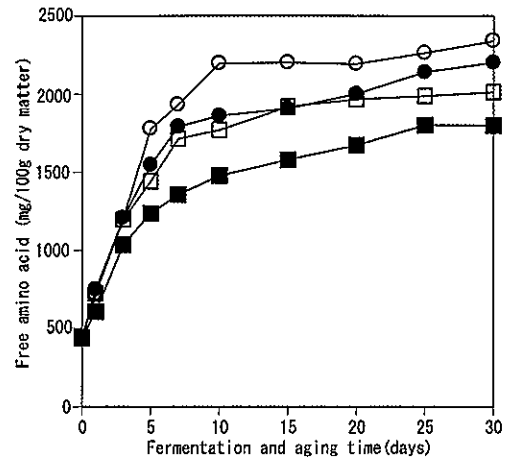


Fig. 33 Changes in the total amount of free amino acid* during fermentation of sausages

* : without glutamic acid
 ● - *L. brevis* 0910 -○- *L. buchneri* 1001
 ■ - *L. plantarum* -□- Control

Table 10 Free amino acid content of fermented sausages

Fermentation and aging time(days)	<i>L. brevis</i> 0910				<i>L. buchneri</i> 1001				<i>L. plantarum</i>				Control			
	0	30	30	30	0	30	30	30	0	30	30	30	0	30	30	30
Asp	29	136	201	48	28	136	201	48	28	136	201	48	28	136	201	48
Thr	28	111	125	87	28	111	125	87	28	111	125	87	28	111	125	87
Ser	37	117	150	32	37	117	150	32	37	117	150	32	37	117	150	32
Asn	7	22	32	32	7	22	32	32	7	22	32	32	7	22	32	32
Gly	42	182	165	140	42	182	165	140	42	182	165	140	42	182	165	140
Ala	95	419	402	432	95	419	402	432	95	419	402	432	95	419	402	432
Val	29	178	181	147	29	178	181	147	29	178	181	147	29	178	181	147
Cys	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Met	23	61	63	61	23	61	63	61	23	61	63	61	23	61	63	61
Ile	28	114	128	114	28	114	128	114	28	114	128	114	28	114	128	114
Leu	47	182	202	186	47	182	202	186	47	182	202	186	47	182	202	186
Tyr	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
Phe	27	81	93	91	27	81	93	91	27	81	93	91	27	81	93	91
His	9	113	149	74	9	113	149	74	9	113	149	74	9	113	149	74
Lys	36	281	253	220	36	281	253	220	36	281	253	220	36	281	253	220
Arg	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0	7
Hypro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pro	14	207	200	76	14	207	200	76	14	207	200	76	14	207	200	76
Total	448	2224	2344	1755	448	2224	2344	1755	448	2224	2344	1755	448	2224	2344	1755

(mg/100g DM)

7) 色調および破断強度の経時変化

発酵熟成期間におけるソーセージの色調と破断強度の経時変化を Table11に示した。発酵熟成30日目の*L. plantarum* 区は他の3区に比べて有意 (P < 0.05) にa*値、C*値が高く、L*値が低い、赤みが濃く暗い、サラミ特有の暗赤色を有していたのに対し、*L. buchneri* 1001区、*L. brevis* 0910区は、赤みが薄い、やや明るめの色調を呈していた。*L. plantarum* 区と他の3区の間で色調に差が生じたのは、乳酸量とそれに伴うpHの差によるものと推察された。破断強度は全区ともに発酵熟成が進むのにもない有意に高くなる傾向を示したが、30日目では*L. plantarum* 区が4010gに達したのに対し、*L. brevis* 0910

Table 11 Change of color and breaking strength during incubation of fermented sausages

L x	Fermentation and aging time(days)					
	5	10	15	20	25	30
<i>L. brevis</i> 0910	51.1±3.39 ^{AB a}	46.0±1.70 ^{A ab}	43.7±0.67 ^{A b}	45.6±0.85 ^{A ab}	47.1±4.24 ^{A ab}	44.0±0.42 ^{A b}
<i>L. buchneri</i> 1001	52.3±2.12 ^{A a}	40.1±2.83 ^{B c}	45.9±1.56 ^{A b}	38.8±1.56 ^{B c}	43.9±2.83 ^{A bc}	42.4±1.27 ^{AB bc}
<i>L. plantarum</i>	53.7±2.40 ^{A a}	38.7±1.41 ^{B b}	38.5±0.85 ^{B b}	33.8±0.85 ^{C c}	39.7±1.41 ^{A b}	37.6±0.99 ^{C b}
Control	44.2±2.40 ^{B a}	36.9±0.85 ^{B b}	39.9±0.99 ^{B b}	38.3±1.13 ^{B b}	39.7±1.70 ^{A b}	40.8±0.42 ^{B ab}
a x						
<i>L. brevis</i> 0910	5.2±0.14 ^{B d}	6.3±0.28 ^{B c}	6.5±0.28 ^{B c}	9.0±0.57 ^{B ab}	8.5±0.42 ^{B b}	9.4±0.28 ^{B a}
<i>L. buchneri</i> 1001	4.5±0.49 ^{B c}	5.1±0.28 ^{B c}	4.8±0.14 ^{C c}	6.1±0.42 ^{C b}	9.2±0.42 ^{B a}	9.3±0.28 ^{B a}
<i>L. plantarum</i>	10.0±0.99 ^{A c}	12.5±0.85 ^{A b}	12.5±0.99 ^{A b}	14.3±0.28 ^{A ab}	12.8±1.13 ^{A b}	15.0±0.42 ^{A a}
Control	10.5±1.13 ^{A b}	12.6±0.99 ^{A a}	7.4±0.14 ^{B b}	9.7±0.00 ^{B b}	11.4±0.28 ^{A a}	9.0±0.28 ^{B b}
b x						
<i>L. brevis</i> 0910	7.1±0.28 ^{D b}	12.2±0.85 ^{AB a}	12.2±0.99 ^{AB a}	12.5±1.98 ^{A a}	12.4±1.41 ^{AB a}	12.8±0.71 ^{AB a}
<i>L. buchneri</i> 1001	15.3±0.57 ^{A a}	13.3±0.57 ^{A ab}	13.7±1.70 ^{A ab}	13.5±0.42 ^{A ab}	12.2±0.71 ^{AB b}	12.0±0.28 ^{B b}
<i>L. plantarum</i>	13.0±0.85 ^{B ab}	13.7±0.71 ^{A ab}	10.4±0.14 ^{B c}	12.3±0.85 ^{A b}	14.2±0.14 ^{A a}	14.0±0.42 ^{A a}
Control	9.3±0.71 ^{C c}	10.7±0.99 ^{B bc}	8.2±0.85 ^{B c}	11.1±0.28 ^{A b}	10.8±0.42 ^{B bc}	12.9±0.57 ^{AB a}
C x						
<i>L. brevis</i> 0910	8.8±0.28 ^{B c}	13.7±0.57 ^{B b}	13.8±0.57 ^{B b}	15.4±0.28 ^{B a}	15.1±1.13 ^{B ab}	15.9±0.42 ^{B a}
<i>L. buchneri</i> 1001	15.5±0.85 ^{A a}	14.2±2.26 ^{B a}	14.5±0.57 ^{AB a}	14.8±0.99 ^{B a}	15.3±0.71 ^{B a}	15.2±0.57 ^{B a}
<i>L. plantarum</i>	16.4±2.12 ^{A b}	18.5±0.42 ^{A ab}	16.2±0.57 ^{A b}	18.9±0.57 ^{A ab}	19.1±0.85 ^{A a}	20.5±0.85 ^{A a}
Control	14.1±1.13 ^{A b}	16.5±0.85 ^{AB a}	11.1±1.27 ^{C c}	14.8±0.57 ^{B ab}	15.7±0.99 ^{B ab}	15.8±0.14 ^{B ab}
Breaking strength(g)						
<i>L. brevis</i> 0910	300±14.14 ^{B c}	1440±56.57 ^{B b}	1850±84.85 ^{C a}	1990±70.71 ^{C a}	1930±84.85 ^{C a}	2010±268.70 ^{C a}
<i>L. buchneri</i> 1001	280±14.14 ^{B c}	1300±70.71 ^{B b}	1370±98.99 ^{D b}	1870±127.28 ^{C a}	1710±183.85 ^{C a}	1850±98.99 ^{C a}
<i>L. plantarum</i>	370±42.43 ^{A c}	2930±240.42 ^{A b}	4030±127.28 ^{A a}	3990±70.71 ^{A a}	4080±410.12 ^{A a}	4010±42.43 ^{A a}
Control	290±14.14 ^{B c}	2640±325.27 ^{A b}	2820±226.27 ^{B ab}	2940±155.56 ^{B ab}	3260±212.13 ^{B a}	2960±84.85 ^{B ab}

Data are expressed as an average ± SD (n=4).

^{a-d} Values in a same column with different superscripts are significantly different at p<0.05.

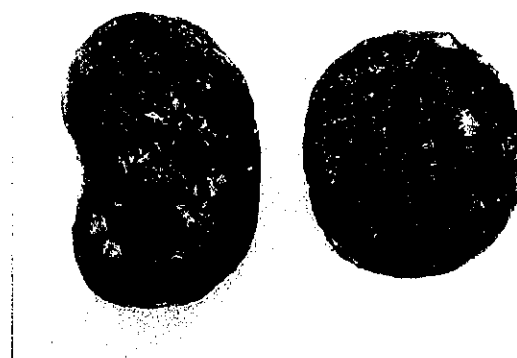
^{a-d} Values in a same row with different superscripts are significantly different at p<0.05.

区は2010 g、*L. buchneri* 1001区は1850 gと有意に低くなり、*L. plantarum* 区より軟らかく、脆い物性となった。コントロール区は2960 gで*L. plantarum* 区とGABA生成菌添加区との中間であり、有意差が認められた。GABA生成菌添加区とコントロール区のかたさが*L. plantarum* 区より低くなった要因は、発酵中生成される乳酸量が少なく、pHが十分に低下せず、組織がかたくならなかったためと推察された。なお、発酵熟成30日目のソーセージの色調と破断強度において、*L. brevis* 0910区と*L. buchneri* 1001区間には有意差は認められなかった。

8) 外観

L. plantarum 区とGABAを多量に生成した*L. buchneri* 1001区の発酵熟成30日目のソーセージ断面の全体写真をFig. 34に、断面の実体顕微鏡写真をFig. 35に示した。*L. plantarum* 区は真円状を呈し、断面には空隙がなく、組織がなめらかで全体が均等にかた

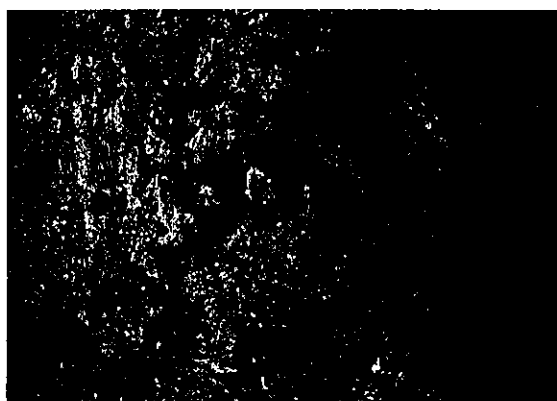
いことから、発酵熟成中にムラなく収縮したものと推察された。一方、*L. buchneri* 1001区はいびつな形状を呈し、組織に空隙があり脆く、堅さが不均等であった。空隙の原因はGABA生成時に生じるCO₂によるものと推察され、これも前述のテクスチャーの脆さに影響したものと考えられた。



(a)*L. buchneri* 1001 (b)*L. plantarum*

Fig. 34 Photograph of sausage section
The sausage were fermented and aged for 30days

(a) *L. buchneri* 1001



(b) *L. plantarum*

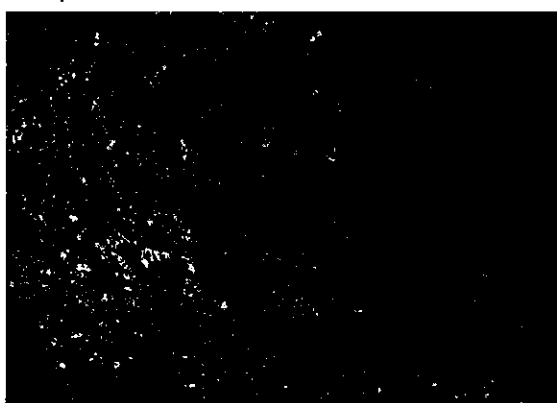


Fig. 35 Macro photography of sausage section
The sausage were fermented and aged for 30days

9) 官能評価

官能試験の結果を Table12 に示した。 *L. plantarum* 区が外観と総合評価で有意 ($P < 0.05$) に GABA 生成菌添加区より高い評価となった。GABA 生成菌スターターを用いたソーセージの評価が外観と総合評価で低くなったのは *L. plantarum* 区に比べサラミ特有の暗赤色が薄いことや組織が脆く菌ごたえがないことが要因と推察された。酸味については

L. plantarum 区の強い酸味についての評価が分かれたため、 *L. plantarum* 区と GABA 生成菌添加区で同程度の評価となった。また、全項目で *L. brevis* 0910区と *L. buchneri* 1001区間で有意差は認められなかった。

第3節 小括

GABA 生成乳酸菌である *Lactobacillus brevis* 0910、 *Lactobacillus buchneri* 1001 をスターターとして用いた発酵ソーセージについて、発酵熟成中の理化学的性状の変化を *Lactobacillus plantarum* を用いたものと比較検討した結果、今回供試した GABA 生成乳酸菌は 2 株とも、発酵ソーセージ中で GABA を生成する能力があり、 *L. buchneri* 1001 区では 3000 mg、 *L. brevis* 0910 区では 600mg と多量の GABA を含有する発酵ソーセージを製造することが出来た。GABA 生成乳酸菌をスターターとして用いることで、直接 GABA を添加することなく、うま味調味料として一般的に発酵ソーセージに添加されているグルタミン酸ナトリウムとの併用により GABA を高濃度含有する発酵ソーセージの製造が可能となる。しかし、通常、発酵ソーセージスターターとして用いられる *L. plantarum* に比べ、生成する乳酸量が少なく、GABA 生成に伴う pH の上昇もあり、組織が脆く、色調が悪くなる等の問題点も明らかとなった。また、 *L. brevis* 0910 区の最終 pH は 5.7 とスターターとして問題はないと考えられたが、 *L. buchneri* 1001 区の最終 pH は 6.7 と高く、衛生的な問題が発生する可能性が考えられた。このことから、 *L. buchneri* 1001 をスターターと

Table12 Sensory evaluation of fermented sausages

Starter culture	Appearance	Flavor	Hardness	Sour	Overall
<i>L. brevis</i> 0910	2.80±0.42 ^b	2.90±0.56 ^a	2.70±0.48 ^{ab}	3.30±0.48 ^a	2.80±0.42 ^b
<i>L. buchneri</i> 1001	2.70±0.48 ^b	2.90±0.57 ^a	2.40±0.52 ^b	3.20±0.63 ^a	2.70±0.48 ^b
<i>L. plantarum</i>	3.40±0.52 ^a	3.20±0.92 ^a	3.10±0.57 ^a	3.20±1.14 ^a	3.30±0.67 ^a

Data are expressed as an average ± SD (n=10).

Different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

5: very good, 4: good, 3: normal, 2: poor, 1: very poor.

して利用する場合には、① *L. plantarum* などの乳酸生成能の高い菌種との混合②発酵前原料への乳酸の添加③グルコース添加による乳酸発酵

の促進などにより乳酸量を高め、pHを下げる必要があると考えられた。

総 括

食品や自然産物などの富山県地域資源から GABA を生成する乳酸菌を探索し、その同定及び GABA 生成能の検討を行った。さらに、分離した GABA 生成乳酸菌をスターターとして、富山県の伝統漬物である「かぶらずし」および非加熱発酵ソーセージを製造し、発酵中の微生物叢の変化、化学的変化およびその品質について検討した結果、いくつかの知見を得た。本研究の概要は以下の通りである。

1. 富山県産漬物からの GABA 生成乳酸菌の分離と GABA 生成特性の解明

7種20品目の富山県産の漬物から GABA 生成乳酸菌の分離を試み以下の結果を得た。即ち、糠漬けから GABA 生成能を有する乳酸菌が分離され、*Pediococcus acidilactici* と同定され、本菌を PA-TOYAMA と命名した。PA-TOYAMA の生育条件を漬物製造によく利用されている *L. plantarum* と比較検討した結果、生育温度については *L. plantarum* と同様に 5℃では増殖できなかったが10℃での生育が可能であった。NaCl 濃度については *L. plantarum* より高い 9%での生育が可能であり、pHについては *L. plantarum* と同様に pH3.0~6.0と広い pH 域で生育した。次に、PA-TOYAMA の GABA 生成能の検討を行った結果、50~400mM の MSG から42~161 mM の GABA 生成が確認された。PA-TOYAMA は MSG 濃度が高くなるにつれて GABA の生成量は増加していたが、GABA 変換率は低下し、MSG 50mM で84%であったのに対し、400mM では40%となった。また、PA-TOYAMA は MSG 濃度100mM の条件下において、pH5.0で90mM、NaCl 2%で86mM と高い GABA 生成能を有していた。

2. 富山県地域資源（食品、自然産物）からの GABA 生成乳酸菌の分離と GABA 生成特性の解明

まずずし等の伝統食品をはじめ、水産食品、畜産食品、農産食品や高山植物やチューリップ等の自然産物などの富山県地域資源から広く GABA を生成する乳酸菌の探索・分離を試み、その同定および GABA 生成能の検討を行い、以下の結果を得た。即ち、伝統食品や自然産物など286検体から1864株の乳酸菌を分離し、4株の GABA 生成乳酸菌を得た。4株はまずずし (0910株)、越中味噌 (0912株)、かぶらずし (1001株)、チューリップ (1005株)から分離された。得られた GABA 生成乳酸菌は、0910株が *Lactobacillus brevis*、0912株および1001株が *Lactobacillus buchneri*、1005株が *Lactococcus lactis* と同定され、それぞれ *Lactobacillus brevis* 0910、*Lactobacillus buchneri* 0912、*Lactobacillus buchneri* 1001および *Lactococcus lactis* 1005と命名した。GABA 生成乳酸菌 4株はそれぞれ異なる GABA 生成能を有し、かぶらずしから分離した *L. buchneri* 1001が最も GABA 生成能が高く、チューリップから分離した *L. lactis* 1005が最も低かった。培地の pH を酸性に調整することにより GABA 生成量は増加し、*L. brevis* 0910は pH5.0で、*L. buchneri* 0912、*L. buchneri* 1001は pH4.5で最も多くの GABA を生成した。*L. buchneri* 1001は培地の pH を4.5に維持しながら培養することにより、800mM の MSG から550mM (GABA 変換率69%) の GABA を生成した。

3. *Pediococcus acidilactici* TOYAMA の「かぶらずし」への応用

糠漬けから分離した *Pediococcus acidilactici* TOYAMA (PA-TOYAMA) をスターターとして用い、富山県の伝統的な漬物である「かぶらずし」を製造し、発酵中の微生物叢の変化、化学的変化およびその品質について検討を行い以下の結果を得た。即ち、試作したかぶらずしは100 gあたり580mgと市販製品(富山県内13社18製品の平均45mg/100 g)に比べ多量のGABAを含有していた。また、試作したかぶらずしの乳酸量は938mg/100 gと、市販製品(12.5mg~654.9mg/100 g)に比べ多く、酸味の強い製品となった。官能試験の結果、外観、歯触り、味、風味ともに良好で、米麴の甘みと爽やかな酸味のバランスが良好な、市販品と遜色のないものとなった。発酵時間については、GABAの生成時期と官能試験の結果より、7日間行うのが適当であった。

4. *Lactobacillus brevis* 0910、*Lactobacillus buchneri* 1001の非加熱発酵ソーセージへの応用

「ますずし」、「かぶらずし」より分離した *Lactobacillus brevis* 0910、*Lactobacillus buchneri* 1001を用いて非加熱発酵ソーセージを製造し、発酵熟成中の微生物叢の変化、化学的変化およびその品質について *Lactobacillus plantarum* を用いたものと比較検討し以下の結果を得た。即ち、*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区の乳酸菌数は *L. plantarum* 区と同様に発酵初期に著しく増殖し、発酵3日目に 10^9 CFU/gレベルに達した。*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区の乳酸生成量は *L. plantarum* 区の6割程度で、生成速度も緩慢であった。pHは *L. plantarum* 区が発酵開始後速やかに5.1まで低下したのに対し、*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区ではGABA生成時のグルタミン酸脱炭酸によってpHの低下は抑制され

た。GABA(乾物100gあたり)は *L. brevis* 0910区では600mg、*L. buchneri* 1001区では3000mgが生成された。*L. plantarum* 区およびコントロール区(スターター無接種)ではGABAの生成は認められなかった。総遊離アミノ酸量(乾物100gあたり)は *L. buchneri* 1001区が2300mgと最も多く、次いで *L. brevis* 0910区の2200mg、コントロール区の2000mg、*L. plantarum* 区の1800mgとなった。色調は *L. plantarum* 区がサラミ特有の暗赤色を有していたのに対し、*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区は、赤みが薄く、やや明るめの色調であった。かたさは *L. plantarum* 区に比べ *L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区は脆かった。官能試験の結果、*L. brevis* 0910区、*L. buchneri* 1001区は外観と総合で *L. plantarum* 区に比べ低い評価となった。

以上、本研究において、富山県の地域資源より5株のGABA生成乳酸菌を分離することができた。これらは新たな富山県独自の微生物資源として、今後、地域の生産物と組み合わせた様々な新規健康機能性食品の製造が期待される。さらに、分離したGABA生成乳酸菌をスターターとして用いて、これまで実施例が報告されていないGABAを高濃度含有するかぶらずし、非加熱発酵ソーセージを開発し、その品質特性および製造上の問題点等を明らかにした。今回得た知見を基礎とし、今後、その実用化に向けて、更なる研究に取り組む必要がある。

本研究では、富山県地域の微生物資源を有効に活用し、新たな付加価値を持った健康機能性を有する乳酸発酵食品を開発することで、地域の活性化や微生物資源の利用価値の再考につながる成果を得た。

参考文献

- 1) 柏木亨:日本醸造協会誌, 97, 2-6, 2002.
- 2) 中川良二ほか:日本食品科学工学会誌, 52, 140-143, 2005.

- 3) 高橋慶太郎:食品と技術, 2007, 19-21. 2007.
- 4) 愛宕世高:ジャパンフードサイエンス, 2002-9, 85-90. 2002.
- 5) 早川潔ほか:生物工学会誌, 75, 239-244. 1997.
- 6) 細井永次:埼玉県産業技術総合センター研究報告, 6, 88-92. 2007.
- 7) 野村将ほか:日本畜産学会報, 70, 397-402. 1999.
- 8) 上野義栄ほか:生物工学会誌, 85, 109-114. 2007.
- 9) 今堀和友ほか:生化学辞典第2版, 東京化学同人, p.70. 1990.
- 10) 中村寿雄ほか:日本農芸化学会誌, 74, 907-909. 2000.
- 11) 岡田忠司ほか:日本食品科学工学会誌, 47, 596-603. 2000.
- 12) 大森正司ほか:日本農芸化学会誌, 61, 1449-1451. 1987.
- 13) 吉岡義明ほか:FFI ジャーナル, 213, 1145-1156. 2008.
- 14) 梶本修身ほか:日本食品科学工学会誌, 51, 79-86. 2004.
- 15) 渡辺敏郎:New Food Industry, 47, 8-12. 2005.
- 16) 茅原紘ほか:食品と開発, 36(6), 4-6. 2001.
- 17) A. Mori et al. :J. Biochem., 45, 985-990. 1958.
- 18) 辻啓介:栄養学雑誌, 50(5), 285-291. 1992.
- 19) 津志田藤二郎ほか:日本農芸化学会誌, 75, 817-822. 1987.
- 20) 鶴澤昌好ほか:栄養学雑誌, 60, 239-242. 2002.
- 21) H. Aoki et al. : Biosci. Biotech. Biochem., 67, 1806-1808. 2003.
- 22) 早川和仁:フードケミカル, 2007(3), 55-58. 2007.
- 23) F. Cavagnini et al. : Acta Endocrinologica, 93, 149-154. 1980.
- 24) 岡田忠司:食品と開発, 36(6), 7-9. 2001.
- 25) 大森正司ほか:日本食品科学工学会第42回大会, 1995.
- 26) T. Saikusa et al. :Biosci. Biotech. Biochem., 58, 2291-2292. 1994.
- 27) 片桐充昭ほか:日本食品工業学会誌, 36, 916-919. 1989.
- 28) 鶴澤昌好:フードスタイル21, 9(5), 56-58. 2005.
- 29) 岡田幸子ほか:日本食品保蔵科学会誌, 36, 173-176. 2010.
- 30) 岸本宗和ほか:日本醸造協会誌, 98, 737-742. 2003.
- 31) Sanders, J. Wet al. :Mol. Microbiol., 27, 299-310. 1998.
- 32) 森地敏樹:日本食品科学工学会誌, 49, 207-219. 2002.
- 33) 小崎道雄ほか:乳酸菌実験マニュアル, 朝倉書店, p.15. 1992.
- 34) Shida, O et al. :Int J Syst Bacteriol, 47, 289-298. 1997.
- 35) 大友理宣ほか:生物工学会誌, 84, 479-483. 2006.
- 36) 入澤友啓ほか:日本食品保蔵科学会誌, 36, 83-87. 2010.
- 37) 寺沢なお子ほか:日本食品科学工学会誌, 45, 149-154. 1998.
- 38) 上野真理子ほか:日本食品科学工学会誌, 54, 118-127. 2007.
- 39) 芳賀聖一ほか:日本食品科学工学会誌, 41, 797-802. 1994.
- 40) 加藤丈雄:日本食品科学工学会誌, 38, 1063-1069. 1991.
- 41) 加藤丈雄ほか:日本食品科学工学会誌, 41, 108-115. 1994.
- 42) 加藤丈雄ほか:日本食品科学工学会誌, 37, 248-255. 1990.
- 43) 加藤丈雄ほか:日本食品科学工学会誌, 37, 715-721. 1990.
- 44) 三上正幸ほか:日本畜産学会報, 69, 53-61. 1998.

- 45) 森岡豊ほか：日本畜産学会報, 67, 204-210. 1996.
 46) 沼田正寛ほか：日本畜産学会報, 59, 12-22. 1988.

英文要旨

1. Isolation of γ -Aminobutyric Acid (GABA) Producing Lactic Acid Bacteria from Pickles Manufactured in Toyama Prefecture

A lactic acid bacterium, producing a high level of γ -aminobutyric acid (GABA) was isolated from Nukazuke (fermented rice bran) produced in Toyama Prefecture. The obtained results are summarized as follows:

- (1) This strain was identified by 16S rRNA gene sequencing analysis and named *Pediococcus acidilactici* TOYAMA (PA-TOYAMA).
- (2) The GABA producing capacity of PA-TOYAMA in GYP liquid medium was examined. PA-TOYAMA Produced 42~161mM of GABA from 50~400mM sodium glutamate and produced more on the condition of pH5.0, 2% NaCl.

2. Isolation of γ -Aminobutyric Acid (GABA) Producing Lactic Acid Bacteria from Foods and Plants in Toyama Prefecture

Four strains of lactic acid bacteria which produce a high level of γ -aminobutyric acid (GABA) were isolated from foods and plants produced in Toyama Prefecture. These lactic acid bacteria were identified and the productive capacity of GABA in GYP liquid medium was examined. The obtained results are summarized as follows:

- (1) These lactic acid bacteria were identified and were named *Lactobacillus brevis* 0910, *Lactobacillus buchneri* 0912,

Lactobacillus buchneri 1001 and *Lactococcus lactis* 1005 by 16S rRNA gene sequencing analysis. These strains were isolated from *masuzushi*, *miso*, *kaburazushi* and tulip respectively.

- (2) There was a difference in the productive capacity of GABA among four strains, *Lb. buchneri* 1001 showed the greatest capacity, while *Lc. lactis* 1005 did the least.
- (3) *Lb. brevis* 0910, *Lb. buchneri* 0912, *Lb. buchneri* 1001 produced the largest amount of GABA on the condition of pH4.5 or 5.0.
- (4) In the case of *Lb. buchneri* 1001, when the pH level of the medium was at 4.5, a maximum of 550mM GABA was produced from 800mM sodium glutamate concentration (GABA conversion rate 69%).

3. *Kaburazushi* fermented by *Pediococcus acidilactici* TOYAMA,

By using *Pediococcus acidilactici* TOYAMA, γ -aminobutyric acid (GABA) producing lactic acid bacterium as a starter, *Kaburazushi*, traditional turnip pickle of Toyama Prefecture was made on an experimental basis. The obtained results are summarized as follows:

- (1) The experimental *Kaburazushi* contained 580 mg/100 g of GABA, compared to 45mg/100 g of GABA based on average of 18 commercial *Kaburazushi*.
- (2) The experimental *Kaburazushi* contained 938 mg/100 g of lactic acid, whereas the commercial *Kaburazushi* did 12.5mg to 654.9mg/100 g. As a result, the experimental *Kaburazushi* was more sour than the commercial *Kaburazushi*.
- (3) The experimental *Kaburazushi* had a

sour taste and its flavor was as good as the commercial *Kaburazushi*.

- (4) It was indicated that 7-day fermentation is optimal time for GABA containing *Kaburazushi* by PA-TOYAMA on the basis of the requirement time to GABA production and the result of sensory tests.

4. Application of *Lactobacillus brevis* 0910, *Lactobacillus buchneri* 1001 to Fermented Sausage

By using each of *Lactobacillus brevis* 0910 and *Lactobacillus buchneri* 1001, γ -aminobutyric acid (GABA) producing lactic acid bacteria as a starter, fermented sausage was made on an experimental basis, and were compared with *Lactobacillus plantarum*. The obtained results were summarized as follows:

- (1) The number of cells of *Lb. brevis* 0910 and *Lb. buchneri* 1001 in sausages increased to 10^9 CFU/g after 3-day fermentation in the same way as *Lb. plantarum*.
- (2) Lactic acid content in sausages by *Lb. brevis* 0910 and *Lb. buchneri* 1001 constituted about 60 percent of that of *Lb. plantarum*. The growth of the former strains were also slower.
- (3) Sausages by *Lb. brevis* 0910 contained 600 mg/100 g D.M. of GABA, while those with *Lb. buchneri* 1001 did 3,000 mg/100 g D.M.
- (4) The color of the sausage in *Lb. plantarum* was dark red found typically in salami sausage and the texture was hard. Sausages by *Lb. brevis* 0910 and *Lb. buchneri* 1001 were light red and slightly brighter in color, and the texture were brittle.
- (5) The result of a sensory evaluation

showed that *Lb. brevis* 0910 and *Lb. buchneri* 1001 had a lower evaluation score than *Lb. plantarum* in appearance and overall item.

富山県農林水産総合技術センター
食品研究所研究報告
第2号

平成26年3月31日 発行

発行所

〒939-8153 富山市吉岡1124-1
富山県農林水産総合技術センター
TEL : (076) 429-2111
FAX : (076) 429-2701

発行者

太田 清

編集所

〒939-8153 富山市吉岡360
富山県農林水産総合技術センター
食品研究所
TEL : (076) 429-5400
FAX : (076) 429-4908

編集責任者

平野 寛

印刷所

〒939-8208 富山市布瀬町南2丁目3-9
(有)平野総合印刷社
TEL : (076) 425-8102
FAX : (076) 491-4053