

漬物の発酵に由来する香りの研究（第 1 報）

岩佐 悟* 山田 沙也加* 吉浦 貴紀*

1. はじめに

漬物は「お新香」「香の物」とも呼ばれるように、独特の香気が食欲をそそる古来から重要な副食物であるが、発酵に伴う香り変化の原因成分の詳細な解明や香気の制御技術は確立されていなかった。その原因の一つは、発酵に関与する菌が原料野菜由来であるためであった。原料によって菌の種類が異なるために、その他の条件（漬け温度、塩分等）を同じにしても常に同じ漬物を製造することが困難だった。

2. 目的

当センターでキムチから分離した漬物用乳酸菌 HS-1 (図 1) をスターターとして使用することで菌相を固定し、その他の発酵条件を管理することによる香气成分の制御技術を開発する。また、その際に制御すべき官能評価用語の選定と、その原因となる成分の解明を行うことを目標とする。

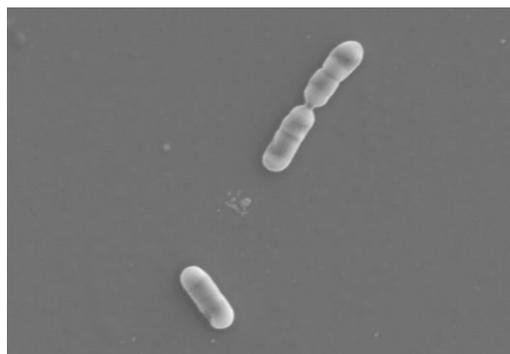


図 1 漬物用乳酸菌 HS-1

本年度は、以下の研究を行ったので報告する。

1. 菌相を固定する漬物製造条件の検討
2. 制御すべき官能評価用語の選定
3. ヘッドスペース GC/MS による漬物香气成分の分析条件の検討
4. 各温度条件における香气成分の変化の測定

3. 実験方法

3.1 白菜発酵漬物製造条件

3.1.1 基本製造条件

文献¹⁾及び特許²⁾を参考に基本製造条件を決定した。

洗浄・下漬け・殺菌方法

- ①原料の洗浄・殺菌：葉の隙間まで水で洗う→白菜 10kg に対して食塩 3kg, 酢酸 50ml, 水 10L を加えて 4 時間の下漬け（間に 1 回手入れ）
- ②流水で 30 分脱塩（内 4 回水換え）

発酵条件

- ③下漬け白菜に食塩 1%, 酢酸ナトリウム 0.5%, 酵母エキス 0.1%, 及び乳酸菌 HS-1 を 10^5 CFU 以上になるように添加して 20°C で発酵させる

3.1.2 様々な発酵条件での試作

基本製造条件を元に、発酵温度、塩分、発酵時間、酵母エキスの量について変化させて様々な条件で白菜漬物の製造を行い、以降の官能評価用語選定、ヘッドスペース GC/MS 分析の為のサンプルとした。

表 1 漬物の試作条件

試作番号	発酵温度	最終塩分	発酵日数	酵母エキス濃度
1	5°C	3.5%	2 日	0.1%
2	10°C	3.5%	2 日	0.1%
3	15°C	3.5%	2 日	0.1%
4	20°C	3.5%	2 日	0.1%
5	25°C	3.5%	2 日	0.1%
6	30°C	3.5%	2 日	0.1%
7	35°C	3.5%	2 日	0.1%
8	40°C	3.5%	2 日	0.1%
9	20°C	2%	2 日	0.1%
10	20°C	2%	5 日	0.1%
11	20°C	4%	2 日	0.1%
12	20°C	4%	5 日	0.1%
13	20°C	6%	2 日	0.1%
14	20°C	6%	5 日	0.1%
15	20°C	8%	2 日	0.1%
16	20°C	8%	5 日	0.1%
17	15°C	2%	3 日	0.0%
18	15°C	2%	3 日	0.1%
19	15°C	2%	3 日	0.2%
20	15°C	4%	3 日	0.0%
21	15°C	4%	3 日	0.1%
22	15°C	4%	3 日	0.2%
23	20°C	2%	2 日	0.0%
24	20°C	2%	2 日	0.1%
25	20°C	2%	2 日	0.2%
26	20°C	4%	2 日	0.0%
27	20°C	4%	2 日	0.1%
28	20°C	4%	2 日	0.2%

3.2 官能評価用語の検討

3.2.1 評価員の選定

評価員は、当センター食品部門員 9 名とした。また、評価員に嗅覚異常の有無を、パネル選定用基準臭（第一薬品産業㈱）選定基準濃度を使用し、5-2 法（ニオイ紙 5 本中 2 本に基準臭液を付け、残り 3 本には無臭の対照液をつけ、被験者はニオイのある 2 本のニオイ紙を当てる方法）にて試験をおこない、評価員に嗅覚異常の無いことを確認した。

*食品バイオ部門

3.2.2 官能評価方法

容器はフタ付で容器自体のにおいの感じられないフードパック丸 129-430 (アズワン) を使用した。

室温 23℃とし、試料は室温に達してから官能評価を行った。

フタをあけて数秒すると一部の香りが明らかに感じられなくなり、再び同じ香りになるまでにはフタをしてから 5 分程度要するため、同一サンプルを複数用意し、常に空けた直後の香りを実験できるようなにした。

3.2.3 官能評価用語の収集、アンケート調査

発酵漬物の香りに関する官能評価用語について、アンケート調査、及び過去の文献³⁾⁴⁾から抽出し、抽象的用語 16 語、具体的用語 33 語を収集した。

表 1 で試作した漬物について、収集した用語を感じられるかの評価を評価員 9 名で行った。

3.3 ヘッドスペース GC/MS 分析条件の検討

S-trapHS 付き JMS-Q1050GC (日本電子株) を使用した漬物香気成分の分析条件の検討を行った。

次年度以降、各香気成分の強度と官能評価結果とを統計処理にかけ、香りの原因成分を探索するために、特定の成分を高感度に検出するのではなく、多くの成分を検出できる分析条件を検討した。

検討条件として、バイアル加熱温度・時間、カラム昇温条件、SCAN 範囲、クライオフォーカスの有無について行った。

3.4 各温度条件における香気成分の変化の測定

香気成分制御技術の基礎データ収集のため、表 1 の試作番号 1, 3, 5, 7 について、香気成分の分析を行った。

4 結果及び考察

4.1 白菜発酵漬物製造条件

4.1.1 製造条件の検証

水洗い後、下漬け後の白菜の細菌数は表 2 のようになり、乳酸菌 HS-1 を 10^5 以上になるように添加することで他の菌を圧倒し、発酵に関する菌をほぼ固定できると考えられた。

表 2 水洗い後、下漬け後の白菜の細菌数

	一般生菌	乳酸菌	大腸菌群
水洗い後	4.8×10^4	5.0×10^3	30
食塩、酢酸による殺菌・下漬け後	4.3×10^3	1.0×10^2	非検出

4.1.2 発酵経過の検証

乳酸菌 HS-1 の生育可能温度である 5℃~40℃の範囲内で変化させて発酵させた場合 (表 1 番号 1~8) の各菌数を測定した (表 3)。また、対象として乳酸菌 HS-1 非添加区も作成した。乳酸菌 HS-1 非添加区において、野菜由来と思われる乳酸菌は下漬け直後の 1.0×10^2 から 20℃2 日で 1.1×10^3 に増殖した。一方、乳酸菌添加区においては、15℃~35℃の範囲で 10^7 以上に増殖

し、発酵に関する菌の主体を乳酸菌 HS-1 に固定できたと考えられた。

表 3 各温度で発酵させた場合の菌数、PH 及び塩分

発酵温度	乳酸菌数 (CFU/g)	大腸菌群 (CFU/g)	pH	塩分
5℃	1.0×10^5	10	5.3	3.5%
10℃	3.9×10^5	非検出	5.2	3.5%
15℃	1.9×10^7	非検出	4.6	3.5%
20℃	5.7×10^7	非検出	4.3	3.5%
25℃	7.2×10^7	非検出	4.3	3.5%
30℃	1.9×10^7	非検出	4.2	3.5%
35℃	1.2×10^7	非検出	4.2	3.5%
40℃	1.8×10^6	非検出	4.5	3.5%
20℃ HS-1 非添加	1.1×10^3	非検出	5.4	3.5%



図 2 試作した白菜漬物

4.2 官能評価用語の検討

9 人中 6 人以上が感じると回答した用語を採用し、抽象的用語 4 語 (表 4)、具体的用語 7 語 (表 5) を選抜した。

表 4 抽象的用語の検討

抽象的用語	感じる	感じない
広がりのある	1	8
穏やかな	0	9
深みのある	0	9
冷たい	0	9
パンチ	4	5
ツンツンした	9	0
むかっとくるような	9	0
暖かい	1	8
芳香性	0	9
重い	8	1
特徴のない	0	9
暗い	2	7
生き生きした	2	7
さわやかな	8	1
湿っぽい	2	7
乾いた	0	9

表5 具体的用語の検討

具体的用語	感じる	感じない
生臭い	6	3
腐敗臭	9	0
チーズ・バター臭	3	6
ミルク臭	0	9
アーモンド様の	0	9
青臭い	6	3
柑橘様の	0	9
アルコール様の	0	9
木の匂い	1	8
血の匂い	0	9
バニラ様の	0	9
焦げた匂い	1	8
甘い	1	8
温泉臭	0	9
発酵臭	9	0
すっぱい	9	0
脂臭い	4	5
カビ臭	0	9
花様の	0	9
果実様の	0	9
日向臭	1	8
ハッカ様の	1	8
肉様の	0	9
ニンニク様の	0	9
スパイシー	1	8
金属臭	1	8
薬品臭	0	9
カラシ様	9	0
不快臭	1	8
ザーサイ様	3	6
古漬臭	7	2
ムレ香	3	6
糠臭	1	8

4.3 ヘッドスペース GC/MS 分析条件

各検討条件について、検出ピーク数、ピーク面積の合計値を算出し、最も大きくなる条件を検討した。

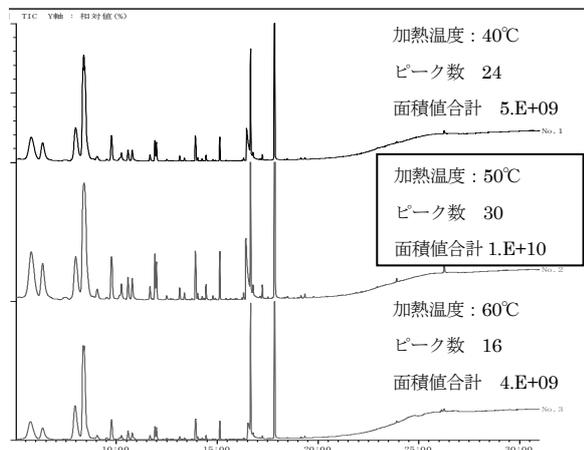


図3 バイアル加熱温度の検討例

表6 ヘッドスペース GC/MS 分析条件

サンプリングモード	Trap mode
トラップ管	GL Trap1(TENAX)
抽出回数	1回
ドライパージ時間	2.5分
クライオ時間	-180°C 3分
バイアルサイズ	22ml
試料量	1g
サンプリング温度	50°C
サンプリング時間	10分
カラム	DB-WAX (60m×0.25mm(d.f.0.50μ m))
昇温条件	40°C(3min)→10°C/min →240°C(10min)
カラム流量	2ml/min
イオン化エネルギー	70eV
イオン源温度	200°C
GCTIF 温度	210°C
SCAN 範囲	m/z29-300(500msec)

4.4 各温度条件における香気成分の変化の測定

各発酵温度における香気成分のピーク面積の変化を表7に示す。各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合により35成分が同定、1成分が推定された。

Acetaldehyde, Methyl Alcohol, Ethanol がすべての条件でも高く検出された。これらは発酵臭に関与していると考えられている⁵⁾。特に Acetaldehyde はチーズやヨーグルトの主要香気成分として知られており、乳酸菌由来と考えられる。

20°C以下の発酵条件でのみ高く検出された3-Butenyl isothiocyanate, 2-Phenylethyl isothiocyanateは、白菜の香りを形成する主要イソチオシアネートとして知られている。25°Cではほとんど検出されなくなり、高温で発酵する際の白菜様の香りの消滅の原因となることが示唆された。前田⁶⁾、高間⁷⁾も発酵の経過に伴い減少することを報告している。これらと同様の挙動を示したピークNo.31は同定できなかったが、イソチオシアネートに類似した質量数であり、白菜に高い濃度で存在することが知られている4-Pentenyl isothiocyanateである可能性が考えられたため、今後標品による同定を行う予定である。

ピーク面積の大きい成分については以上の通りであるが、ピーク面積に応じて香りの強度が決まるのではなく、非常に低濃度でも香りとして強く感じる成分も多く知られている。次年度以降、そのような成分についてにおい嗅ぎGC及び統計処理により検討していく。

5. まとめ

1. 菌相を固定する漬物製造条件の決定を行った。
2. 制御すべき官能評価用語の選定を行った。
3. ヘッドスペースGC/MSによる漬物香気成分の分析条件を決定した。
4. 発酵温度による香気成分の変化を明らかにした。

6. 今後の課題

本年度決定した漬物製造条件, 官能評価用語, ヘッドスペース GC/MS 分析条件を用いて, 各製造条件で製造した漬物の官能評価, 香気成分分析を同時に行う。次にそれらの結果を統計処理することにより各官能評価用語の原因となる香気成分の探索を行う。また, 味についても同時に評価するために味覚認識装置による分析も並行して行う予定である。

7. 参考文献等

- 1) 茨城県工業技術センター研究報告 vol131, 24 (2002)
- 2) 乳酸菌を用いた漬物の製造方法 特許 3091196
- 3) 下田満哉・佐々木仁・土肥由長・亀田弥・箴島豊: 日食工誌, 36, 17 (1989)
- 4) 石川健一・加藤丈雄・小宮孝志: 日食工誌, 50, 361 (2003)
- 5) 笠原 賀代子・西堀 幸吉: 栄養と食糧, 35, 73 (1982)
- 6) 前田安彦・小沢好夫, 宇田靖: 日本農芸化学会誌, 53, 261(1979)
- 7) 高間総子・石井滯・村木繁: 日食工誌, 33, 701(1986)

表 7 各発酵温度における香気成分の面積 (%)

Peak No.	Components	HS-1		HS-1 添加		
		無添加	20°C※1	5°C	15°C	25°C
1	Acetaldehyde	11.94	21.35	19.85	16.78	15.28
2	Propanal	—	—	3.14	5.87	5.87
3	Methyl Alcohol	10.21	6.9	5.21	6.76	10.66
4	Ethanol	27.93	20.13	19.86	21.98	30.44
5	2,3-Butanedione	—	—	0.41	—	—
6	Pentanal	—	—	—	1.1	1.56
7	1-Penten-3-one	—	0.54	0.91	2.79	3.55
8	2-Butenal	—	—	—	0.59	0.76
9	2,3-Pentanedione	—	0.38	0.93	0.81	1.08
10	Hexanal	0.36	0.43	0.74	1.56	1.54
11	2-Pentenal	—	—	0.2	0.38	0.65
12	3-Hexenal	—	—	—	0.05	—
13	1-Penten-3-ol	0.61	1.13	1.66	1.88	2.2
14	4-Heptanal	0.15	0.22	0.24	1.28	0.63
15	Heptanal	—	—	—	0.17	0.18
16	2-Hexenal	0.46	0.47	0.56	0.53	0.51
17	1-Pentanol	0.11	0.15	0.16	0.34	0.35
18	n-Butyl isothiocyanate (Methallyl cyanide)※2	1.52	3.05	2.88	2.83	1.56
19	Methyl thiocyanate	0.26	0.37	0.35	0.28	0.24
20	Acetoin	0.19	0.12	0.44	0.22	0.08
21	2-Penten-1-ol,(Z)-	0.12	0.2	0.27	0.43	0.5
22	2-Heptenal	0.12	—	—	0.51	0.52
23	1-Hexanol (Z)-	0.1	—	0.14	0.16	0.15
24	5-Cyano-1-Pentene	0.39	1.04	0.92	1.47	1.7
25	1-Octen-3-ol	0.1	—	—	0.22	0.29
26	2-Octenal, (E)-	0.07	—	0.09	0.11	0.23
27	Acetic acid	2.03	1.1	3.85	8.4	14.16
28	3-Butenyl isothiocyanate	16.8	15.18	13.57	5.63	—
29	2,4-Heptadienal,(E,E)-	0.1	0.1	0.2	0.51	0.62
30	1-Octanol	—	—	—	0.04	0.08
31	unknown	22.84	22.44	19.73	14.18	0.17
32	Hexyl isothiocyanate	—	0.08	0.07	—	0.07
33	2-Octen-1-ol	0.15	—	—	0.08	—
34	Heptyl isothiocyanate	0.1	0.09	0.09	—	—
35	2,7-Octadien-1-ol	—	—	—	0.22	0.16
36	3-Phenylpropionitrile	0.11	0.09	0.07	0.09	0.14
37	2-Phenylethyl isothiocyanate	1.22	1.86	1.37	0.28	—

※1:発酵温度 ※2:n-Butyl isothiocyanate 及び Methallyl cyanide の混合ピークと推定