

## 漬物の発酵に由来する香りの研究（第6報）

### —乳酸菌の選抜と香気成分の探索—

岩佐 悟\* 飛田 啓輔\* 吉浦 貴紀\*

#### 1. はじめに

第1報から第3報<sup>1-3)</sup>では、1種類の乳酸菌（漬物用乳酸菌 HS-1）をスターターとして使用し、温度、塩分、脱気処理の有無などの発酵条件を変えた場合の香気成分変化の解明を行い、特に発酵温度と脱気処理が香りに影響を与えることを明らかにした。第4報<sup>4)</sup>からは、乳酸菌の種類の違いによる発酵漬物の香気成分の変化を明らかにし、乳酸菌の種類及び発酵条件を制御することによる漬物の香りの制御技術の開発をめざして研究を行っている。第4報<sup>4)</sup>、第5報<sup>5)</sup>では、茨城県産黄真白菜、県内の漬物製品から乳酸菌の採取を行い、15菌種68株の乳酸菌の収集・同定を行ってきた。

#### 2. 目的

今年度は、乳酸菌の選抜と、乳酸菌の違いによって変化する発酵漬物の香気成分の探索を目的に研究を行った。

#### 3. 実験方法

##### 3.1 乳酸菌発酵漬物の評価と乳酸菌の選抜

###### 3.1.1 試作

第5報までに採取した乳酸菌に、センター保有の乳酸菌7株を加えた75株をそれぞれ添加して発酵漬物を試作した。試作は12回に分けて行った。試作ごとに対照群として乳酸菌を添加しない漬物も併せて試作した。

漬物の試作は、特許<sup>6)</sup>記載の製造方法に記載の方法で行った。白菜2kgに対し、食塩600g、酢酸10ml、水2Lを加え、重石2kgをかけて4時間置いた後、30分水洗後に脱水した。次に食塩1%、酢酸ナトリウム0.5%、酵母エキス0.1%、水10%、及び乳酸菌を $10^5$ CFU/g以上になるように添加し、重石2kgをかけて15°Cで72時間発酵させた。

###### 3.1.2 品質評価

3.1.1で試作した発酵漬物の乳酸菌数の測定、pH測定（堀場製 D-51）、及び職員2名による風味の評価を行った。乳酸菌数の測定は、MRS 白亜寒天培地を使用し、30°C恒温器中でアネロパック・ケンキ（三菱ガス化学株式会社）を使用して72時間嫌気培養を行った。

##### 3.2 主要香気成分の探索

###### 3.2.1 におい嗅ぎ分析

3.1.1で試作した発酵漬物をヘッドスペースガスクロマトグラフィー質量分析計（以下、GC/MSとする）を使用したにおい嗅ぎ分析<sup>\*</sup>を行い、香気成分の探索を行った。分析条件は概報<sup>3)</sup>の通り。におい嗅ぎのパネルは職員2名で実施した。カラムで分離され保持時間

ごとに出てくる成分に対し、においを感じるか、どのようなにおいかの評価と、同時に質量分析計により成分の同定と面積値の算出を行った。

※におい嗅ぎ分析（図1）は、バイアルに一定量入れたサンプルを加温後、揮発する香気成分を含んだ空気をガスクロマトグラフ（GC）に導入する。GC中のカラムで成分を分離後、保持時間ごとに出てくる成分をスプリットで2つに分け、一方はトランスファーラインをとおって人が嗅ぐことができ（においを感じた時にサムレベルスイッチを押し、感じたにおいを記録する）、もう一方を質量分析計（MS）に導入し成分の同定と面積値の算出を行う。

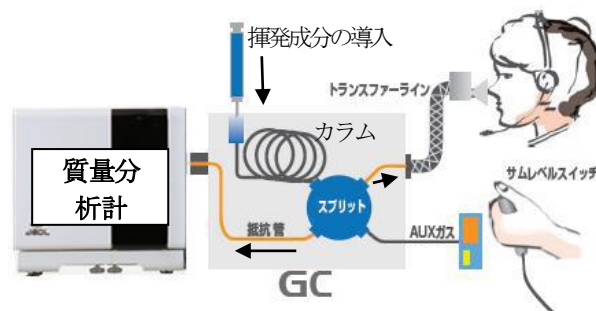


図1 におい嗅ぎ GC/MS 模式図  
（株）日本電子 HP を一部変更）

#### 4. 研究結果及び考察

##### 4.1 乳酸菌発酵漬物の評価と乳酸菌の選抜

添加した乳酸菌により、乳酸菌数、pHに違いがみられた（表1）。乳酸菌数が $10^8$ CFU/gまで増加し、かつpHも4.2~4.4まで低下する菌株（SY1など）、 $10^8$ CFU/gまで増加するが、pHの低下は4.5~4.9程度にとどまる菌株（SH9など）、乳酸菌の増殖が見られず、pHの低下もほとんどない菌株（KRL10など）があった。また、風味にも違いがあり、白菜香、ヨーグルト香、漬物臭、蒸れ臭、硫黄臭などのにおいや、旨味、酸味、塩かど等の味の違いが感じられた（表1）。また、対照群である乳酸菌添加無しは、乳酸菌数が $1.1 \times 10^3$ CFU/g以下に抑えられており、原料由来菌の影響を抑えられていると考えられた。

乳酸菌が増殖（ $10^6$ CFU/g以上）し、風味に特徴があり、かつ菌種または分離源の異なる乳酸菌8株を選抜し、次年度以降の研究に使用することとした。

\*食品バイオ部門

表1 乳酸菌発酵漬物の品質評価(抜粋<sup>※</sup>)

試作	菌種	株名	乳酸菌数	pH	漬物の風味	選抜
			CFU/g			
1回目	乳酸菌添加なし		300以下	5.6	白菜, 漬物臭, 苦み, 青臭い	
	<i>Lactobacillus sakei</i>	HS1	$5.6 \times 10^8$	4.4	漬物, 蒸れ臭, ヨーグルト, さわやかな酸味	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SY7	$4.2 \times 10^8$	4.3	強い漬物, 酸味, 旨み	
2回目	乳酸菌添加なし		300以下	5.6	白菜, 塩かど, 苦い	
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SY1	$9.8 \times 10^8$	4.4	酸臭, ぬか臭, 白菜, さわやか, ヨーグルト, 程よい酸味	○
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SY2	$4.7 \times 10^8$	4.2	硫黄臭, 漬物, 酸っぱい, 酸味, ヨーグルト, さわやか	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH6	$8.9 \times 10^8$	4.2	酸臭, 硫黄臭, 腐敗, ヨーグルト	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH7	$6.1 \times 10^8$	4.4	漬物臭, ツンとした酸, ヨーグルト	
	<i>Leuconostoc carnosum</i>	HK5	$3.5 \times 10^8$	4.6	硫黄臭, 弱い酸, 旨み, 漬物	○
	<i>Leuconostoc carnosum</i>	HK6	$1.0 \times 10^8$	4.9	漬物臭, 白菜, 硫黄臭, 漬物, 弱い酸	
3回目	乳酸菌添加なし		$1.1 \times 10^3$	5.5	塩かど, 白菜, 苦い	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLS1	$5.0 \times 10^8$	4.4	白菜香, 漬物臭, 酸味, 苦み, ヨーグルト臭	
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SLS2	$6.5 \times 10^8$	4.6	漬物臭, 酸味, 苦み, ヨーグルト臭	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLS3	$7.8 \times 10^8$	4.5	酸臭, 漬物臭, 白菜, さわやか, 酸味, 生臭	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLS4	$5.0 \times 10^7$	4.7	白菜, カラシ, さわやかな酸味, 蒸れ臭	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLS5	$7.7 \times 10^8$	4.6	発酵臭, 白菜, さわやかな酸味, 蒸れ臭	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	SLS6	$5.3 \times 10^7$	4.7	白菜, 浅漬け, 弱い酸味, 塩かど	○
	<i>Leuconostoc carnosum</i>	IK2	$2.0 \times 10^4$	5.3	白菜, 漬物臭, 浅漬け, さっぱり	
	<i>Leuconostoc carnosum</i>	IK4	$4.0 \times 10^5$	5.6	白菜, 漬物臭, 生臭い, 塩かど, 浅漬け, 苦い	
4回目	乳酸菌添加なし		300以下	5.5	塩かど, 白菜, えぐみ	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN1	$8.0 \times 10^7$	4.7	さわやかな酸味, 白菜, 弱い酸味, 旨み	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN2	$1.1 \times 10^8$	4.8	塩かど, ツンとした白菜, 酸味, ややニガ	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN3	$8.0 \times 10^7$	4.7	ほのかな酸味, 白菜, すっきり, 旨み	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN4	$1.2 \times 10^8$	4.5	白菜, さわやかな酸味	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN5	$1.2 \times 10^8$	4.7	ツンとした, 白菜, 浅漬け, 埃, 酸味, 塩かど	○
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN7	$1.4 \times 10^8$	4.5	浅漬け, やや塩かど, 酸味, 苦み	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	YN8	$1.0 \times 10^8$	4.7	浅漬け, 白菜, やや塩かど, すっきり, 苦み	
5回目	乳酸菌添加なし		300以下	5.4	白菜, 塩かど	
	<i>Lactobacillus brevis</i>	NK3	$3.5 \times 10^8$	4.3	酸味, ツンとした, チーズ味, 酸っぱい, 旨み, ヨーグルト	
	<i>Lactobacillus brevis</i>	NK4	$2.8 \times 10^8$	4.4	酸味, チーズ, 酸っぱい, 白菜, ヨーグルト	○
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SH1	$4.8 \times 10^8$	4.4	蒸れ臭, 酸臭, 酸味, すっきり	
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SH2	$4.9 \times 10^8$	4.4	白菜, フルーティ, 酸味	○
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SH3	$2.7 \times 10^8$	4.5	白菜, やや塩かど, フルーティ, さわやかな酸味, ニガ	
	<i>Lactobacillus sakei</i>	SH4	$3.7 \times 10^8$	4.4	酸味, 白菜, フルーティ	
<i>Lactobacillus sakei</i>	SH5	$4.5 \times 10^8$	4.5	白菜, フルーティ, 酸味		
6回目	乳酸菌添加なし		$7.5 \times 10^2$	5.7	白菜, 塩かど, 青臭い	
	<i>Pediococcus parvulus</i>	NN1	$1.5 \times 10^6$	5.4	酸臭, 漬物, 旨み, ぬか臭	
	<i>Pediococcus parvulus</i>	NN2	$3.0 \times 10^6$	5.5	発酵臭, 旨み, ぬか臭	
	<i>Pediococcus parvulus</i>	NN3	$1.6 \times 10^6$	5.5	発酵臭, すっきり, 白菜	
	<i>Pediococcus parvulus</i>	NN4	$1.7 \times 10^6$	5.6	発酵臭, 旨み, ぬか臭	○
	<i>Lactobacillus sp.</i>	KRL10	$3.0 \times 10^3$	5.8	白菜, 塩かど	
<i>Lactobacillus sp.</i>	KRL12	$3.4 \times 10^5$	5.8	穏やかな白菜, さわやか, やや酸味		
7回目	乳酸菌添加なし		300以下	5.7	白菜, 塩かど	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH8	$2.4 \times 10^8$	4.9	硫黄臭, 弱い酸味, 腐敗, 白菜, 旨み, 甘味	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH9	$1.7 \times 10^8$	4.9	白菜, 硫黄臭, 旨み, 弱い酸味	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH10	$9.2 \times 10^7$	4.9	発酵臭, 弱い硫黄臭, 弱い酸味, 塩かど, 旨み	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH11	$7.0 \times 10^7$	4.8	フルーティ, 旨み, 白菜, 漬物, 弱い酸味	○
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SY3	$2.1 \times 10^8$	4.7	硫黄臭, 白菜, 酸味すっきり, ややにが	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SY4	$4.1 \times 10^8$	4.9	硫黄臭, 白菜, すっきり, やや酸味, 塩かど		

※選抜した乳酸菌を含む試作回のみを抜粋した

## 4.2 主要香氣成分の探索

### 4.2.1 におい嗅ぎ分析による探索

試作した 87 種類の漬物（乳酸菌を変えて試作した 75 種類と、試作区分ごとに作成した乳酸菌添加無し漬物 12 種類）についてにおい嗅ぎ分析を実施した。乳酸菌を添加した漬物で、におい嗅ぎでにおいを感じた時間の直前にあるクロマトグラムのピークを選抜し、成分の推定を行った結果、36 成分を選抜した（表 2）。乳酸菌 HS-1 で発酵させた場合には感じられなかったにおい成分も存在した。

表 2 推定成分と表現されたにおい

化合物名(推定※)	表現されたにおい
Hydrogen sulfide	腐った, 硫黄, オナラ
Methanethiol	硫黄, 腐った, 生ごみ
Acetaldehyde	青りんご, さわやか, アルデヒド
Dimethyl sulfide	モアツとした, 沢庵
Propanal	溶媒, ポンド
Mercaptamine	硫黄, 沢庵, 蒸れ臭
Isovaleraldehyde	蒸れ臭, 溶媒, ゴム
Ethanol	アルコール臭
2,3-Butanedione	ヨーグルト
1-Penten-3-one	焦げた草, ゴム, ビニールの溶けた
2-Butenal	いたんだ野菜, ジャガイモ
2,3-Pentanedione	ヨーグルト, 溶媒
Isobutanol	コーヒー, 苦い
Hexanal	茎, レタス
cis-3-Hexenal	青草い, 茎, 草
1-Penten-3-ol	草
Cyclopropylacetonitrile	ツンとしたカラシ, 白菜, プラスチック
3-Methyl-1-butanol	蒸れ臭, 焦げた
1-Pentanol	青草い, 莖
Dicyclopropylmethane	ツンとしたカラシ, 白菜
Butyl isothiocyanate	ツンとしたカラシ, 苦い
5-Cyano-1-pentene	とうもろこし
cis-3-Hexen-1-ol	茎, カラシ, 青臭い
Dimethyl trisulfide	漬物臭, 沢庵, カラシ
Acetic acid	酸臭
trans-2-Octenal	埃, ピーナッツ
3-Butenyl isothiocyanate	ツンとした白菜
2,4-Heptadienal, (E,E)-	ヨーグルト, フルーティ
b-Linalool	柑橘, フルーティ
4-Pentenyl isothiocyanate	ツンとした白菜, カラシ
2,6-Nonadienal, (E,Z)-	青草い, カメムシ, キュウリ
3-Methyl butanoic acid	納豆, 足の臭い
Heptyl isothiocyanate	フローラル
Geraniol	レモン, 柑橘
Benzenepropanenitrile	カラシ, 白菜
Phenylethyl isothiocyanate	カラシ, ツンとする, フローラル

※NIST ライブラリーのマスパターンとの比較による

### 4.2.2 漬物の風味と GC/MS 面積値の比較による選抜

3.1.1 で試作した発酵漬物における漬物の風味の評価結果と発酵漬物を GC/MS 分析して得られた結果（選抜した成分の面積値）を比較することで、漬物の風味の原因となる成分の探索を行った。風味ごとに感じられた群と感じられない群に分け、感じられた群の GC/MS における平均面積値の方が 2 倍以上大きく、か

つ 2 群に対して t 検定を行い、有意差の出る成分を選抜した。また、選抜した成分について、乳酸菌添加無し、風味を感じる群、感じない群の 3 郡に分け、乳酸菌添加無しの面積値を 100 とした場合の面積比を算出した（表 3）。

白菜香と感じた群では、Cyclopropylacetonitrile と 3-Butenyl isothiocyanate が選抜された。どちらの成分もおい嗅ぎ分析で白菜香と感じられ、白菜香の原因成分であると考えられた（表 2）。

ヨーグルト臭を感じた群では 2, 3-Butanedione, cis-3-Hexenal が選抜された。このうち 2, 3-Butanedione はにおい嗅ぎ分析でヨーグルト臭と感じられ（表 2）、原因成分と考えられた。

漬物臭と感じた群では Mercaptamine, 2, 3-Butanedione, Dimethyl trisulfide, trans-2-Octenal が選抜された。このうち Dimethyl trisulfide はにおい嗅ぎ分析でも漬物臭と感じた（表 5）。Dimethyl trisulfide が主要成分であり、Mercaptamine, 2, 3-Butanedione, trans-2-Octenal も補助因子として働いている可能性が考えられた。

蒸れ臭と感じた群では、Methanethiol, Isovaleraldehyde, 3-Methyl-1-butanol の面積値が大きく、Isovaleraldehyde, 3-Methyl-1-butanol はにおい嗅ぎ分析でも蒸れ臭と感じられ（表 2）、原因成分と考えられた。

硫黄臭を感じた群では Methanethiol, Mercaptamine, trans-2-Octenal の面積値が大きく、このうち Methanethiol, Mercaptamine はにおい嗅ぎ分析においても硫黄臭と感じられ（表 5）、原因成分と考えられた。

乳酸菌添加無し、風味を感じる、感じないの面積平均値を比較すると、Cyclopropylacetonitrile, 3-Butenyl isothiocyanate, cis-3-Hexenal, 及び trans-2-Octenal は、風味を感じる群と乳酸菌添加無しの面積値が同程度で、感じない群の面積値は小さかった。乳酸菌の株により、これらの成分を低減させるタイプと変化させないタイプが存在し、低減させるタイプでは発酵により風味を感じなくなると考えられた。

2, 3-Butanedione, Mercaptamine, Dimethyl trisulfide, Methanethiol, Isovaleraldehyde, 3-Methyl-1-butanol は乳酸菌添加無しに比べ、においを感じる群の面積値が大きく、発酵により生成され、特にその生成量が大きい株では発酵によりにおいを感じるようになると考えられた。

表3 漬物の風味とGC/MS面積値の比較

風味	化合物名(推定)	面積平均値の比 <sup>※1</sup>			t検定 <sup>※2</sup>
		乳酸菌添加無し	感じる	感じない	
白菜香	Cyclopropylacetonitrile	100	103	32	0.016
	3-Butenyl isothiocyanate	100	98	47	0.001
ヨーグルト臭	2,3-Butanedione	100	346	144	0.030
	cis-3-Hexenal	100	122	43	0.001
漬物臭	Mercaptamine	100	776	311	0.009
	2,3-Butanedione	100	307	119	0.011
	Dimethyl trisulfide	100	231	75	0.041
	trans-2-Octenal	100	108	36	0.007
蒸れ臭	Methanethiol	100	230	106	0.014
	Isovaleraldehyde	100	160	22	0.026
	3-Methyl-1-butanol	100	182	62	0.014
硫黄臭	Methanethiol	100	220	100	0.008
	Mercaptamine	100	1041	294	0.000
	trans-2-Octenal	100	113	44	0.020

※1 乳酸菌添加無しの面積平均値を100とする

※2 風味を感じる群と感じない群間の検定 両側, 等分散

5. まとめ

- 採取した乳酸菌を使用した発酵漬物を製造し、品質評価を行った。乳酸菌が増殖 (10<sup>6</sup>CFU/g 以上) し、風味に特徴があり、かつ菌種または分離源の異なる乳酸菌 8 株選抜し、次年度以降に使用することとした。
- におい嗅ぎ分析を行い、においを感じた 36 成分を選抜した。
- 漬物の風味と GC/MS 面積値の比較による選抜を行い、白菜香、ヨーグルト臭、漬物臭、蒸れ臭、硫黄臭を感じるサンプルで面積値が増大する成分を選抜した。乳酸菌による発酵で濃度が低減し、風味を感じなくなる成分と、濃度が増大することでおいを感じるようになる成分があると考えられた。

6. 今後の課題

次年度は選抜した乳酸菌 8 株について、発酵条件ごと、及び乳酸菌を混ぜた漬物を製造し、香気成分の変化を明らかにする予定である。

7. 参考文献等

- 1) 岩佐悟ら, 漬物の発酵に由来する香りの研究(第 1 報) 茨城県工業技術センター研究報告 第 41 号, p13-16 (2012)
- 2) 岩佐悟ら, 漬物の発酵に由来する香りの研究(第 2 報) 茨城県工業技術センター研究報告 第 42 号, p25-28 (2013)
- 3) 岩佐悟ら, 漬物の発酵に由来する香りの研究(第 3 報) 茨城県工業技術センター研究報告 第 43 号, p25-28 (2014)
- 4) 岩佐悟ら, 漬物の発酵に由来する香りの研究(第 4 報) 茨城県工業技術センター研究報告 第 44 号, p29-32 (2015)
- 5) 岩佐悟ら, 漬物の発酵に由来する香りの研究(第 5 報) 茨城県工業技術センター研究報告 第 45 号, p13-14 (2016)
- 6) 乳酸菌を用いた漬物の製造方法 特許 3091196