

資 料

西条柿の有効利用 乳酸菌を利用した発酵調味料の開発

渡部 忍*・土佐 典照**・山崎 幸一***・大坪 睦己****

1. 目 的

島根県浜田市では三隅町を中心に西条柿が栽培されており、浜田市の特産品の一つとなっている。平成15年は約180トン、平成16年は約160トンの柿が生産され、そのうち約2割が規格外品であり、毎年同程度の規格外品が生じている。この規格外品の有効利用を目的として柿酢の製造に関する研究を行い¹⁾、県内企業数社に技術移転をした。この製造方法は、有害微生物を抑える目的で80℃での加熱殺菌工程を取り入れていたため、製造に手間が掛かることや加熱による西条柿の風味の劣化が指摘されていた。

鹿児島県の福山地区で製造されている壺酢（黒酢）は、製造過程における壺中の微生物フローラの変化において、仕込みの初期に乳酸菌が増殖することで、pHが低下し有害な微生物汚染を防止し、製品品質の安定化に寄与していることが報告されている²⁾。また、赤ワインの製造における二次発酵で乳酸菌が増殖し、リンゴ酸が乳酸と二酸化炭素に変換され、酸味をまろやかにすることが知られている³⁾。そこで本研究では、乳酸菌を利用して発酵を阻害するなどの有害微生物の生育を抑制することで、加熱殺菌温度を下げ安定した製造及び、風味の劣化防止の可能性について検討を行った。

2. 方 法

2.1 柿酢の製造

柿酢の製造工程を図1に示した。原料は平成17年に浜田市三隅町で収穫された西条柿（渋柿）5kgを用いた。ヘタと種はおよそ0.65kgであり、柿ペーストの回収率は89%であった。試験区は乳酸菌添加区と無添加の対照区を設定し、表1に示した6試験区とした。

熱処理による殺菌効果は、一般生菌数を測定することで確認した。ペクチナーゼはヤクルト薬品工業製のものを使用した。乳酸菌は既報⁴⁾より酸生成能が高く、柿果汁での香りが良好なLactobacillus plantarum NRIC1918を選択した。酵母は日本醸造協会ブドウ酒用4号を、酢酸菌は松江市内の醸酢場より分譲された種酢を用いた。

各試験区における成分の経時変化を評価するため、発酵

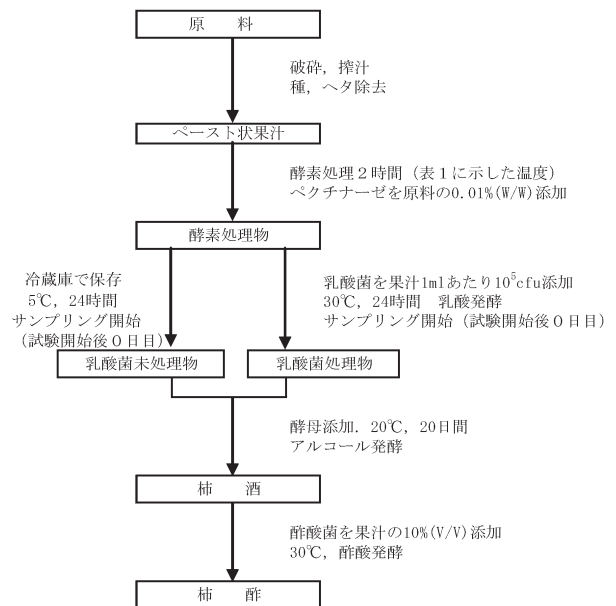


図1 柿酢製造工程

表1 各試験区の条件

試験区	加熱温度 (℃)	乳酸菌
L30	30※	添加
L50	50	添加
L80	80	添加
C30	30※	無添加
C50	50	無添加
C80	80	無添加

※培養室室温

開始後定期的にサンプリングし、冷凍庫（-20℃）で保存し一括して分析を行った。なお、乳酸菌添加区では乳酸菌添加直後を、対照区では酵素処理直後を0日目とした。

2.2 分析

pHはpHメーター（堀場製作所製F-22）、エチルアルコールは食品センサー（新日本無線製NJZ1219；固定化酵素カラム-酸素電極）で分析した。酢酸は0.1mol/L水酸化ナトリウム滴定量から酢酸換算値として算出した。ポリフェノールはフォリンチオカルト法にてD-カテキン相当量として算出した。還元糖及び有機酸は、高速液体クロマトグラフィー（島津製作所 製LC-10A）で分析した。還元糖量の分析条件は、カラム:Asahipak NH2P-50 4E, 移動相:アセトニトリル/水:75/25, 示差屈折検出器:RID-10Aで、有

* 総合支援グループ, ** 研究開発グループ

*** 企画調整スタッフ, **** 日本海酒造株式会社

機酸分析条件は、カラム:Shim-pak SCR-102H, 移動相:p-トルエンスルホン酸水溶液, 示差屈折検出器:RID-6Aとした。また、アミノ酸分析はアミノ酸分析システム(島津製作所製Prominence)を用い、方法:OPA法, カラム:Shim-pak Amino-Na, 蛍光検出器:RF-10Aの条件で行った。

3. 結 果

3.1 酢酸濃度, エチルアルコール濃度, pH及び乳酸濃度の経時変化

各試験区の酢酸濃度の経時変化を図2に示した。乳酸菌添加区においては10日目前後わずかに酢酸が検出された。20日目に酢酸菌を添加したため、全試験区で酢酸の生成が認められたが、その後40日目前後まで増加しなかった。そこで50日目に2度目の酢酸菌添加を行った。その結果、C50を除き全試験区で酢酸の増加が確認された。乳酸菌添加区及びC80では、100日目を過ぎた頃には全て2000mg/100mLを越え、C80, L50はその後順調に増加し120日を過ぎたころには4000mg/100mLを越えた。L30, L80は90日目以降微増であったが、120日過ぎから再度上昇傾向を示した。加熱処理温度が低いC30とC50は、酢酸発酵が緩慢で不安定となった。特にC50は、Lag timeが長くC80や乳酸菌添加区に比べると酢酸生成が遅れた。この原因としては、アルコール生成量の経時変化において、20日目に乳酸菌添加区が6.5% ((w/w)以下同様)であるのに対し、C30, C50は7%から8%と高い値を示したこと、アルコール濃度が高くなり、酢酸菌の酢酸生成を阻害していることが考えられた。

pHの変化を図3に示した。0日目では前処理条件の違いから4.7から5.3程度までばらつきが見られるものの10日目までには乳酸菌添加区は約3.7, 対照区は約4.3と明確な差が見られた。酵母菌による有機酸発酵に加え、乳酸菌添加区では生成した乳酸による影響によるものと推察され

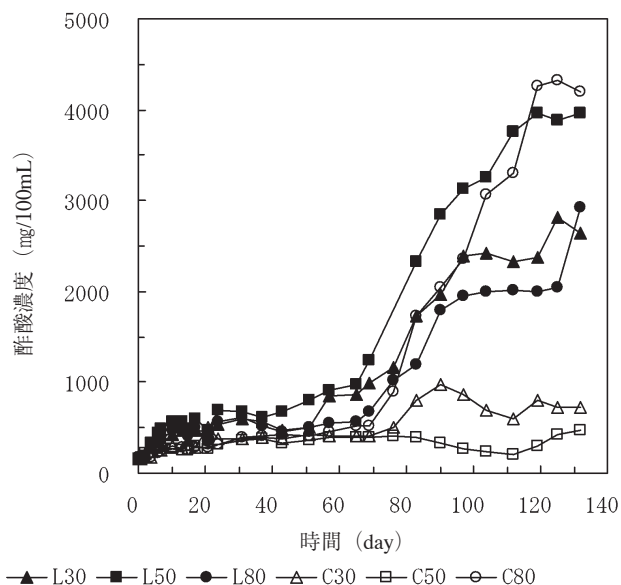


図2 酢酸濃度の変化

た。その後安定していたが、C80において酢酸菌を再添加した50日目以降に急激なpH低下が見られた。同様にC50を除き、その他の試験区でもpHの減少が見られたが変化はC80と比べ緩やかであった。

エチルアルコール濃度の変化を図4に示した。全試験区とも、酵母菌を添加後すみやかにアルコール濃度が上昇した。その後、20日目前後でピークに達してから50日目前後まで変化が少なく、50日目に酢酸菌を再添加した後、徐々に減少した。C30, C50は他の試験区に比べ18日目までに急速に上昇し、50日目まで7~8%の高いアルコール濃度で安定していた。C80は数値の変動があるが、50日目には8%近くになりC30, C50と同程度まで上昇した。一方、乳酸菌添加区は対照区に比べ生成アルコール濃度が低くなった。L80が20日目に7%になったが、40日目から50日目にL30, L50, L80のいずれも約6%程度になった。

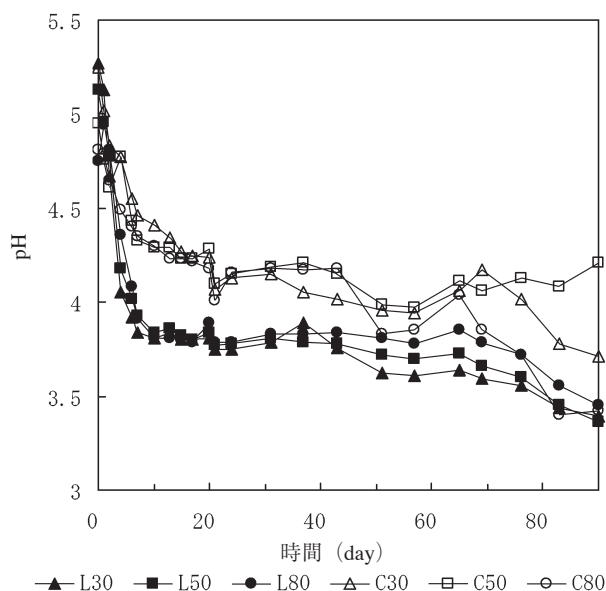


図3 pHの変化

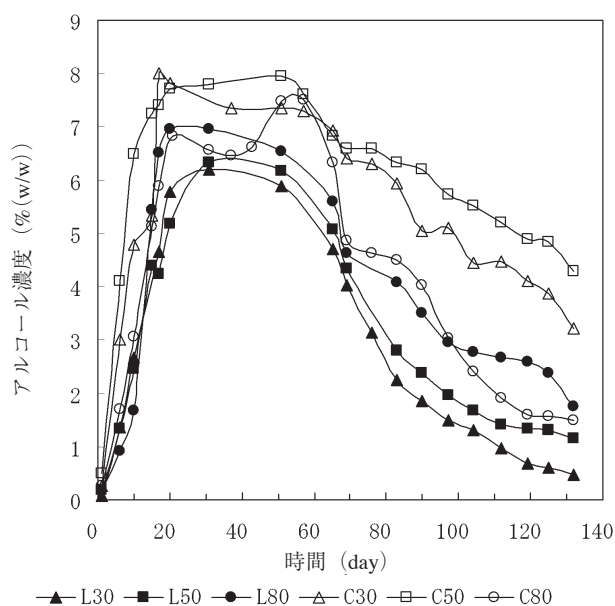


図4 エチルアルコール濃度の変化

酢酸菌を添加した50日目以降にアルコール消費が始まったが、試験区により消費速度にばらつきが見られた。C80は最も急速に消費が進み、50日目に約8%あったアルコール濃度が120日目には2%以下となった。C50、C30は消費速度が緩慢で、120日目でもC50が5%、C30は4%と高い濃度であった。乳酸菌添加区では、3試験区とも順調に消費され、130日目にはL30が0.5%、L50が1.1%、L80が1.8%になった。

乳酸濃度の変化を図5に示した。L30、L50では乳酸菌添加後乳酸は速やかに上昇して7日目頃400mg/100mLに達し、それぞれ17日、10日目で最高値409.6mg/100mL、483.1mg/100mLに達した。L80は10日目の161.6mg/100mLが最高値となり、乳酸菌添加区の中で最も低い値であった。その後、50日目の酢酸菌再添加により酢酸の生成が活発になるのに伴い乳酸の急激な減少が観察された。一方、対照区では乳酸がほとんど検出されなかった。ただし、C50は100日目に乳酸濃度の上昇が認められた。この原因として、C50の100日目以降にリンゴ酸の減少も観察されていることから、原料の加熱温度が低く乳酸菌を中心とした残存野生微生物により生成したものと推察された。乳酸は酢酸菌により消費され、アセトイン、ダイアセチルなどのむれ香の原因になるとも言われているが⁵⁾、今回の製法では特にむれ香は感じられなかった。

3.2 生菌数に対する加熱温度の影響

柿ペーストを50℃、80℃で加熱処理をした後、一般生菌数測定を行った。加熱前に 2.0×10^5 cfu/gあったものが、50℃加熱で 1.4×10^4 cfu/g、80℃加熱で 1.0×10^2 cfu/gになった。

著者らが赤梨果汁の殺菌を検討した場合は、加熱前 10^3 cfu/g台であったものが80℃加熱で不検出になった⁶⁾。従来の方法で柿果汁を扱う場合、微生物管理の上で十分な加熱殺菌が必須である。そこで、加熱温度を低く抑えなが

らも野生の微生物の活性を抑えるために、乳酸菌を果汁当たり 10^5 cfu/mLになるよう添加したところ、乳酸が速やかに生産し、それに伴ってpHも低下した。また、乳酸発酵、アルコール発酵、酢酸発酵も比較的順調に推移した。

3.3 その他の成分における経時変化

3.3.1 ポリフェノール濃度の変化

ポリフェノール濃度の変化をD-カテキン相当量に換算して図6に示した。0日目のカテキン量は熱処理温度に依存した。すなわち、乳酸菌添加区、対照区とも30℃処理区で1200~1300mg/100mL、50℃加熱区で600~800mg/100mL、80℃加熱区では100~200mg/100mLと、加熱温度が高くなると減少した。

また、C30は50日目で50mg/100mL以下に急速に減少した。L30は30日目までに急速に減少し、その後緩やかに減少して80日目に50mg/100mL以下となった。50℃加熱区は緩やかに減少し、C50が50日目に、L50が80日目に50mg/100mL以下となった。80℃加熱区は実験開始時から濃度変化が少なく、90日目前後には50mg/100mL以下となった。渋味の原因である柿カテキンは、90日目に全試験区で50mg/100g以下となった。柿カテキンの渋味を感じるしきい値は、個人差があるものの40~50mg/100gと報告されている⁷⁾。これらのことから、柿酢製造開始から約3ヶ月で渋が抜けるものと考えられた。

3.3.2 還元糖量の変化

還元糖はグルコースとフラクトースを測定した。蔗糖は、実験開始時の試料で検出されなかったため、測定対象から除外した。各試験区の消費された日数及びその間の濃度変化を表すグラフの近似直線の傾きを還元糖量の消費速度として表2に示した。還元糖は、全ての試験区で30日前後には消費された。乳酸菌添加区は対照区に比べ消費されるのに時間がかかる傾向であった。対照区ではC50で最も速やかに消費され、グルコース、フラクトース共に15日目

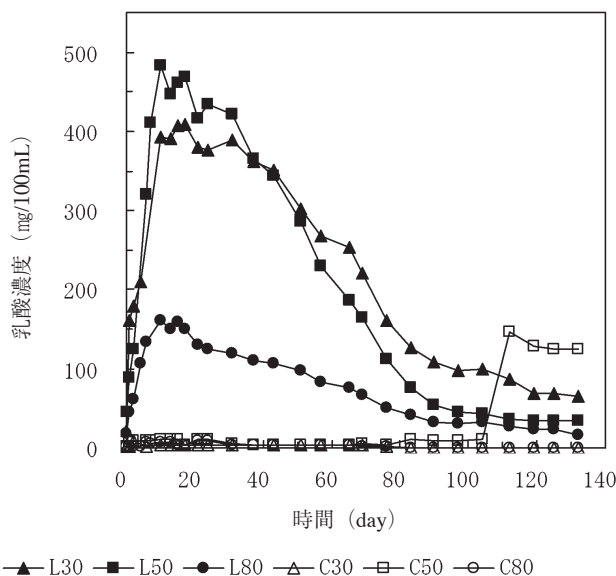


図5 乳酸濃度の変化

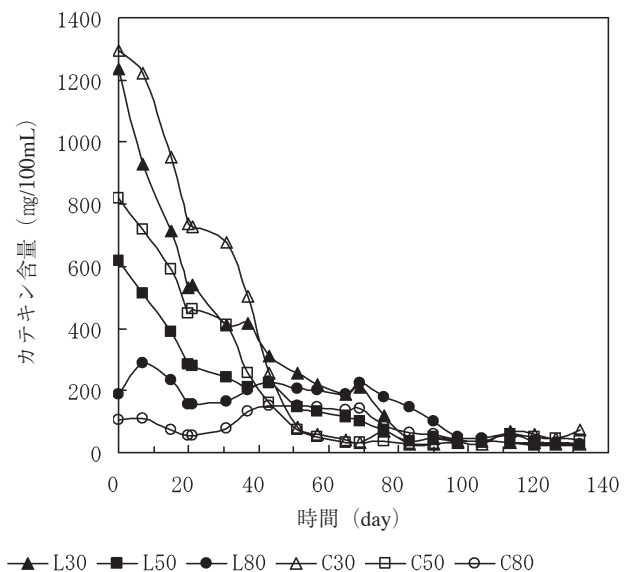


図6 ポリフェノール濃度（カテキン濃度）の変化

には検出限界以下となった。C80は、消費に必要な時間がC30、C50よりも約一週間長かった。乳酸菌添加区ではL80が最も早く、25日目頃までにはグルコース、フラクトース共に消費され、L30、L50に比べ10日程度早く消費された。消費速度について、対照区と乳酸菌添加区を比較するとL80、C80を除きフラクトースおよびグルコースの消費する速度に違いが見られた。つまり、対照区のC30、C50ではグルコースの消費速度がフラクトースの消費速度を顕著に上回っているのに対し、乳酸菌添加区のL30、L50ではほぼ同様な速度を示した。

3.3.3 酢酸、乳酸以外の有機酸濃度の変化

リンゴ酸、コハク酸、クエン酸の13日目までの変化を図7に示した。リンゴ酸は2日目以降、対照区で200mg/100mL程度であるのに対し、乳酸菌添加区では痕跡程度だった。原料由来のリンゴ酸は乳酸菌添加と同時に速やかに減少した。乳酸菌はリンゴ酸を資化し乳酸を生成する事が知られており、添加した乳酸菌により資化されたものと推察された。

コハク酸は、対照区、乳酸菌添加区とも発酵開始直後から生成されて7日目頃に最高値になり、それ以後安定に推移した。対照区では50～80mg/100mL、乳酸菌添加区では150～200mg/100mLと乳酸菌添加区で多く生成された。酵母を添加した後もコハク酸が生成していたことから、酵母と乳酸菌の両者がそれぞれ生成に関与したと考えられる。さらに市販柿酢のコハク酸含量が20～30mg/100mLであるのに対して⁸⁾、L80では96mg/100mLとなり3から5倍に達し、今回の製造方法の特徴の一つといえる。

表2 還元糖量の消費速度

試験区	消費に要した 日数(day)		消費速度※		消費速度の差 $\sqrt{(\text{Glu}-\text{Fru})^2}$
	Glu	Fru	Glu	Fru	
L30	32	32	-0.33	-0.29	0.03
L50	25	32	-0.31	-0.28	0.02
L80	18	25	-0.50	-0.36	0.14
C30	14	24	-0.60	-0.41	0.19
C50	11	14	-0.87	-0.55	0.32
C80	22	25	-0.46	-0.31	0.15

※濃度変化を表すグラフの近似直線の傾き

Glu：グルコース，Fru：フラクトース

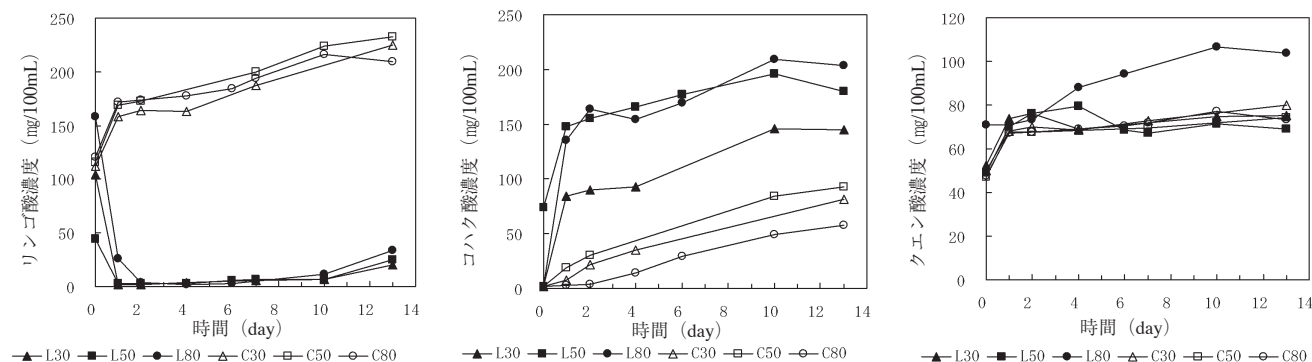


図7 各種有機酸の濃度変化

クエン酸濃度は、全ての試験区において試験開始から終了までほとんど変化しなかった。ただし、C50は100日目からリンゴ酸、クエン酸が消費され、他の試験区とは異なる挙動を示した。同時期に乳酸が生成されたことから、乳酸菌などの野生微生物による汚染が発生したものと考えられた。

コハク酸、リンゴ酸は不揮発性有機酸であり酢酸のように香りに影響することはないが、調理をしたときの呈味、酸味の良否に影響し、これらの有機酸が多いと濃厚な味になると言われている^{2), 5)}。そのため、リンゴ酸が少なく、旨み成分のコハク酸が高くなった乳酸菌添加区は、まろやかな旨みの多い特徴的な味になったと推察される。

3.3.4 アミノ酸濃度の変化

アミノ酸については、17種類のアミノ酸及びγ-アミノ酪酸 (GABA) の分析を行った。不検出あるいは痕跡程度のアミノ酸を除くアラニン (Ala)、バリン (Val)、スレオニン (Thr)、アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu) の5種類のアミノ酸とGABAについて評価を行った。柿原料中のアミノ酸はGluとGABAが主であり、それぞれ100mLあたり約20mg、13mgであった。それに対しAla, Val, Thr, Aspはそれぞれ約1 mg, 2 mg, 4 mg, 5 mgと少量であった。このことから、西条柿はGluとGABAが主であるので旨みが多いことが特徴的であった⁹⁾。酢酸菌添加前の10日目までには全アミノ酸は全ての試験区で消費されていることから、アミノ酸は酵母菌により消費されたものと考えられた。原料由来のアミノ酸が消費された後は、新たに生成するアミノ酸は確認されなかった。C30、C50は2日目までに消費され、他の試験区と比べ2～4日速かった。C30、C50は他の試験区にくらべアルコールの生成量が多いことから、酵母菌の活性が高かったことが原因であると推察された。

3.4 総合評価

以上の結果より、柿酢の製造工程において発酵初期に乳酸発酵を行うことにより、加熱殺菌処理工程の温度を従来の80℃から30℃、50℃に下げても柿酢の製造が可能であった。また、乳酸発酵処理によりリンゴ酸濃度が低くコハク酸濃度が高くなることから、旨みのある柿酢になると推察

された。実際の官能評価では、柿の風味が強く感じられたL50の評価が高かった。従って、乳酸発酵を用いる本研究の製造方法では、加熱殺菌処理工程の省略は難しいが、処理温度を下げてでも柿酢の製造は可能であることが示唆された。

文 献

- 1) 山崎幸一, 土佐典照, 杉中克昭, 堀江修二, 西条柿の有効利用 (柿酢の製造), 島根県立工業技術センター研究報告, **26**, 11-14 (1989)
- 2) 鈴山實, 大塚滋, 酢の科学, 東京, 朝倉書店, **92**, 180 (1990)
- 3) ワイン学編集委員会, ワイン学, 東京, 産業調査会, 114 (1991)
- 4) 仲谷敦志, 農産物を原料とした乳酸発酵飲料の製造, 平成15年度島根県しまねの味開発指導センター業務・研究報告書, 6-9 (2004)
- 5) 日本醸造協会編, 醸造物の成分, 東京, 日本醸造協会, 523, (1999)
- 6) 土佐典照, 山崎幸一, 赤梨果汁の凍結濃縮 (第2報), 平成11年度島根県しまねの味開発指導センター業務・研究報告書, 12-15 (2000)
- 7) 松崎一, 渋戻りしない脱渋柿の利用, 平成16年度島根県しまねの味開発指導センター業務・研究報告書, 5-9 (2005)
- 8) 佐伯明比古, 佐伯和正, 市販柿酢及び柿酢ドリンクの成分調査, 山口県工業技術センター研究報告, **2**, 62-64 (1990)
- 9) 三浦洋, 荒木忠治, 果実とその加工, 東京, 建帛社, 59 (1988)