

伝統食品「山川漬」の製法と品質の特徴

安藤義則*, 富吉彩加*, 大谷武人*, 加藤由貴子*, 下野かおり*, 亀澤浩幸*

Study on Characteristics Manufacturing Method and Quality of Traditional Salted Pickle YAMAGAWADUKE

Yoshinori ANDO, Ayaka TOMIYOSHI, Taketo OTANI, Yukiko KATO, Kaori SHIMONO and Hiroyuki KAMEZAWA

鹿児島県の伝統発酵食品である山川漬について、特有の製造方法と品質との関連性について明らかにするため、原料から放出される揮発成分の抗菌性や熟成中の微生物数、呈味成分の推移を精査した。その結果、干し大根から放出される含硫化合物は、汚染微生物の一つである産膜酵母に対する強い抗菌活性を持ち、これにより常温、低塩分の環境であっても微生物汚染することなく熟成できることを明らかにした。また、低塩分で仕込むことができることから、製品化前の脱塩、調味工程が不要となり、大根の乾燥で生じたGABAがそのまま製品に移行するため、他の大根漬物よりGABAが高含有となることを明らかにした。

Keyword : 漬物, 含硫化合物, 微生物制御, 乳酸菌, GABA

1. 緒言

本県の特産品である山川漬は、「鹿児島ふるさと認証食品（3Eマーク）」に指定されるなど、古くから伝わる特徴的な製法が認められた伝統食品である。その製法は、原料である大根を十分に寒干しし、干し大根に塩をふりかけながら杵でつき、甕（かめ）の中で浸出液につからない状態で3か月以上熟成するという他の漬物にはない技術的特徴がある。

我々は過去の研究において、山川漬の成分的特徴として、低塩分であること、プロリン及びγ-アミノ酪酸（GABA）が豊富に含まれること、特に血圧降下作用が知られているGABAが、製品中250mg/100gと他の大根漬物に比べ高含有であることを明らかにした¹⁾。このGABAについては、血圧上昇抑制やストレス緩和作用が知られる健康機能性成分であり、消費者庁の機能性表示食品届出情報検索によると2022年8月17日現在、関与成分をGABAとする機能性表示食品は73件登録されている²⁾。

一方、熟成中の甕は開封することができないため、発酵に関与していると考えられる乳酸菌や呈味成分の推移を調べることができず、特徴的な製法が成分組成等に与える影響について詳細は不明であった。

そこで、本研究では、山川漬の熟成中における微生物数及び成分の推移を明らかにするとともに、山川漬の特徴的な製法と成分との関連性、特に微生物汚染することなく低塩分仕込みが可能なこと、他の大根漬物に比べてGABAが高含有であることについて、その詳細を検討した。

2. 実験方法

2.1 小仕込み試験

山川漬の製造では、干し大根と塩を入れた仕込み甕（容量約500L）は完全に密閉され、熟成が終了するまで開封できない。これは、開封すると産膜酵母による微生物汚染が発生するためである。そこで、次の方法にて小仕込み試験を行った。すなわち、約1か月間天日干しした大根を、ハンマーで叩きながら食塩をまぶし、3L容量市販漬物容器に1kg程度（6～7本）入れ密閉した。その際、製造現場と同様に浸出液が大根と接触しないよう、容器を倒置し下部の空間に浸出液が溜まるようにした（図1）。仕込み後、小仕込み容器を順次開封し、熟成途中の大根を分析に供した。



図1 小仕込み容器

2.2 分析方法

2.2.1 試料の調製

分析する大根の調製は、縮分した試料をカッターミルで裁断して均一化することで行った。一部の分析項目については、カッターミルで裁断した大根に蒸留水を加えてホモ

* 食品・化学部

ジナイザーで分散，均一化した後，適宜定容し，ろ過した液を試料とした。

2. 2. 2 一般分析及び呈味成分分析

- 1) pH：10倍希釈したろ液をpHメーター (F-72, HORIBA製) にて測定した。
- 2) 塩分：10倍希釈したろ液を塩分計 (PAL-ES2, アタゴ製) にて測定した。
- 3) 水分：加熱乾燥法 (135℃ 3時間乾燥) にて測定した。
- 4) 水分活性：LabSwift-aw (novasina製) を用いて測定した。
- 5) アミノ酸：アミノ酸分析装置 (日本ウォーターズ (株) 製) を使用し，AccQ-Tag法 (誘導体化試薬AccQ・Flour™ を用いたプレカラム法) で行った。
- 6) 有機酸：有機酸分析装置 (日本分光(株)製) を使用し，カラムはShodex KC811，移動相は過塩素酸とした。

2. 2. 3 揮発成分分析

山川漬工場の仕込み甕内の揮発成分については，硫化水素は検知管により，メチルメルカプタン，硫化ジメチル (DMS)，二硫化メチル (DMDS)，三硫化メチル (DMTS) は，既報³⁾に従いFPD検出器付ガスクロマトグラフにて分析した。ガスクロマトグラフの条件は，表1に示す。なお，各化合物標品については，DMS，DMDS，DMTSは関東化学(株)製の特級試薬を，メチルメルカプタン，硫化ナトリウムは富士フィルム和光純薬(株)製の特級試薬を用いた。また，硫化水素については，松原の方法⁵⁾に従い硫化ナトリウム水溶液から発生させた。

表1 ガスクロマトグラフ分析条件

GC	SHIMADZU GC-2014
Column	β , β -ODPN packed column
Oven temperature	70℃
Carrier gas	Nitrogen, 40mL/min
Supporting gas	Air 35kPa, Hydrogen 105kPa
Injection temperature	130℃
Detector	FPD
Flush sampler	SHIMADZU FLS-1
Tube temperature	-183~70℃ (70sec)
Pipe temperature	130℃
Refrigerant	Liquid oxygen

2. 2. 4 微生物数

一般生菌数については，食品衛生検査指針⁶⁾に従い，標準平板菌数測定法にて測定した。乳酸菌数については，MR S培地を用いた嫌気培養にて生じたコロニー数から求めた。

2. 3 抗菌性試験

大根及び含硫化合物の抗菌性評価は，飯田ら⁷⁾の方法を

参考に以下の方法で行った。すなわち，酵母及び乳酸菌を塗抹もしくはスポットした標準寒天培地とMRS培地を作成し，倒置した状態でシャーレ蓋上に供試品を配置し，シャーレをパラフィルムにて密閉した。次いで，酵母及び乳酸菌のシャーレをそれぞれ30℃，37℃で培養し，生育状況を確認した。各化合物の抗菌性評価については，各化合物10mgまたは50mgしみこませた濾紙をシャーレ蓋上に配置した。

使用した微生物は，汚染微生物を想定した酵母4株 (焼酎醸造用，山川漬由来)，発酵関与微生物を想定した乳酸菌8株 (醬油醸造用，焼酎もろみ由来，味噌由来，山川漬由来) とした。

3. 実験結果

3. 1 揮発性含硫化合物が微生物の生育に及ぼす影響

山川漬の製造では，仕込み時の塩分濃度が4~6%程度であり他の塩蔵漬物より低い¹⁾。一方，熟成中は密閉し途中で開封することはない。これは，開封すると産膜酵母による微生物汚染が発生するためである。そこで，密閉していれば低塩仕込みであっても微生物汚染しない理由を検証するため，甕内の環境すなわち気体が微生物の生育に及ぼす影響を調査した。

まず，焼酎醸造用酵母を塗抹した標準寒天培地を，大根が8~9割程度投入された山川漬工場の仕込み甕内に置き，2昼夜経過後に酵母の生育状況を確認した。その結果，酵母の生育は認められなかった。次に，甕から出したシャーレを引き続き培養したところ，酵母の生育が認められた。このことから，甕内部は酵母が生育できない環境であることが明らかとなった。

次に，生大根，干し大根，山川漬から放出される揮発成分の抗菌性を評価するため，各試料5g用い酵母に対する抗菌性を評価した。その結果，図2に示すように生大根には酵母の生育が認められ，干し大根にはわずかに生育が認められ，山川漬には生育が認められなかった。このことから，大根を干すことで抗菌性を持つ揮発成分が放出されることが明らかとなった。

既報⁸⁾によると，大根を乾燥させることで，生大根に含まれるイソチアネート類が消失し，DMDS，DMTS等の含硫化合物が多数生じることが確認されている。そこで，山川漬工場において，仕込み後7か月が経過した密閉甕内部の気体をサンプラーバックに捕集し，含硫化合物の濃度を定量した。その結果，硫化水素 0.7ppm，メチルメルカプタン 4.4ppm，DMS 5.2ppm，DMDS 7.0ppm，DMTS 1.3ppmであった。このことから，甕内に充満した干し大根由来の含硫化合物が酵母の増殖抑制に寄与していると推察された。

次に，各含硫化合物の抗菌性を評価した。微生物は，山川漬から分離された産膜酵母を含む酵母4株及び乳酸菌8

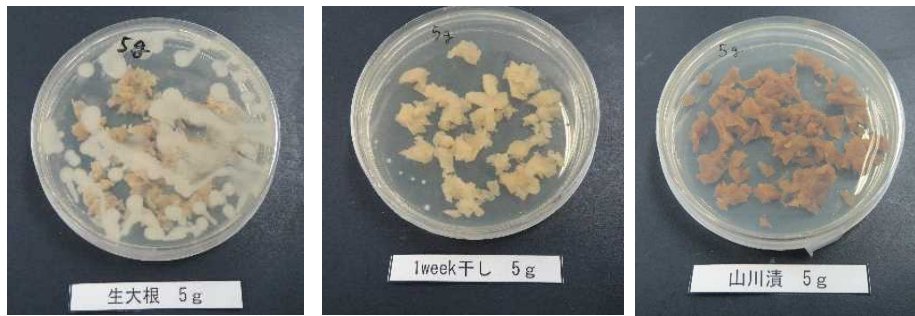


図2 大根の抗菌性試験

株を用いた。その結果、酵母に対してはDMS以外の化合物が濃度依存的に抗菌性を示したが、乳酸菌に対してはいずれの化合物も抗菌性を示さなかった(表2)。なお、この結果から比較的抗菌性が高いと推定された硫化水素について、甕内で検出された濃度0.7ppmより低い0.3ppmの条件で同様の試験を実施したところ、酵母に対する抗菌性を確認することができた。

以上のことから、干し大根から放出される含硫化合物は、主な汚染微生物である産膜酵母に対する強い抗菌活性を持ち、発酵に主要な役割を持つと考えられる乳酸菌には抗菌活性を持たないことがわかった。これにより常温、低塩分の環境であっても微生物汚染することなく長期間に渡って熟成できると推察された。

表2 含硫化合物の抗菌性試験

	硫化水素	メチルメルカプタン	DMS	DMDS	DMTS
酵母	++	+	-	+	++
乳酸菌	-	-	-	-	-

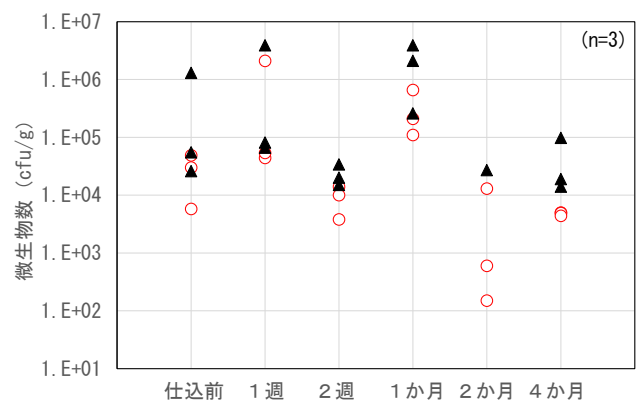
++: 低濃度で活性あり
 +: 高濃度で活性あり または 一部菌株に活性あり
 -: 活性なし

3.2 熟成中における微生物数の推移

これまで、熟成中の微生物の推移について調査がなく、微生物が山川漬の製造工程にどの程度寄与しているのか全く不明であった。そこで、小仕込み試験を実施し、微生物の推移の詳細を調べた。

仕込み後1, 2週, 1, 2, 4か月経過時点の一般生菌数及び乳酸菌数の測定結果を図3に示す。仕込み後1週目の微生物数が最も多く、3試料の平均値で一般生菌数は 1.4×10^6 cfu/g、乳酸菌数は 7.3×10^5 cfu/gであった。その後、熟成が進むに従い減少するが、仕込み後4か月目で一般生菌数は 4.3×10^4 cfu/g、乳酸菌数は 4.8×10^3 cfu/gであり、熟成期間中一定数存在することがわかった。また、熟

成初期においては、一般生菌数と乳酸菌数の値が同等であることから、微生物の主体は乳酸菌であることも併せて明らかになった。



▲: 一般生菌数, ○: 乳酸菌数

図3 熟成中の微生物推移

3.3 熟成中における一般成分の推移

熟成中のpH, 塩分, 水分及び水分活性の推移を表3に示す。pHは、熟成が進むに従い低下し4か月目では4.9であった。これは、熟成中に有機酸が生成するなどの成分変化が起こっているためと推察された。塩分は6%程度であり、熟成中に変化は認められなかった。水分は、大根の乾燥により90.4%から64.8%へと大きく低下し、熟成中に変化は認められなかった。

微生物制御の指標値である水分活性は、大根の乾燥により0.98から0.92に低下し、熟成中は仕込み後1週目で0.89に低下し、その後の変化は認められなかった。大根の乾燥時の水分活性の低下は水分の低下によるもの、仕込み後1週目の低下は食塩を使用した影響によるものと考えられた。一般に、水分活性が低下すると微生物は増殖しにくく、微生物の増殖阻止範囲の水分活性は、多くのバクテリアで0.95~0.91, 酵母で0.89~0.87とされる⁹⁾。このことから、山川漬仕込み時点の水分活性0.92では、香味を劣化させる産膜酵母が増殖する可能性があることがわかった。

表3 一般成分の推移

	生大根	乾燥2週	仕込前	1週	2週	1か月	2か月	4か月
pH	6.4	6.3	5.6	5.4	5.4	5.1	5.0	4.9
塩分(g/100g)	0.4	0.9	2.9	6.0	5.3	6.1	5.8	5.9
水分(g/100g)	90.4	88.2	64.8	62.7	62.2	65.6	64.8	62.5
水分活性	0.98	-	0.92	0.89	0.89	0.89	0.89	0.88

3. 4 熟成中における呈味成分の推移

熟成中の有機酸の推移を図4に示す。乳酸，酢酸は仕込み開始から2週目にかけてわずかに増加した。一方，リンゴ酸，クエン酸は4か月かけて徐々に減少した。石川らの報告¹⁰⁾によると，発酵スターターとして乳酸菌を添加した漬物では，乳酸，酢酸の増加，リンゴ酸の減少が認められた。そこまでの大きな変化ではないものの，山川漬の熟成中の有機酸の変化も乳酸菌等の微生物代謝に起因するものと推察された。なお，ピログルタミン酸の増加については，グルタミンからの非酵素的変換が知られており¹¹⁾，微生物とは無関係に増加したと推察された。

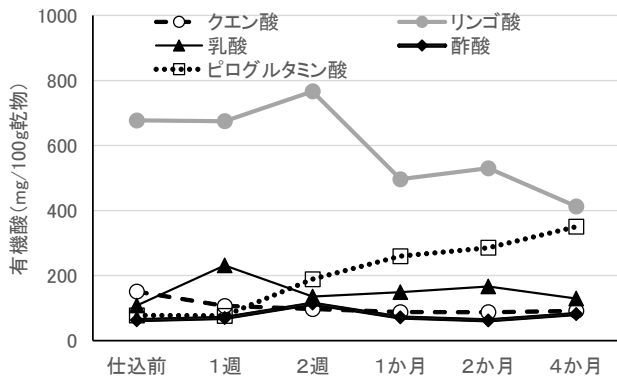


図4 有機酸の推移

熟成中のアミノ酸の推移を図5に示す。アミノ酸総量は，大根の乾燥中に大幅に増加し，熟成期間中にやや減少した。

各成分を詳しく見てみると，ヒスチジンは熟成期間中に大きく減少していた。一般にヒスチジンは，一部の乳酸菌の代謝によりヒスタミンに変換することが知られている。データは示さないが，今回ヒスタミンの生成は認められなかったことから，それ以外の化合物に変化したと考えられるが，詳細については不明である。

次に，GABA及びプロリンは大根乾燥中に増加し，仕込み直前ではそれぞれ840，1570mg/100g乾物であった。GABA及びプロリンは，植物が乾燥ストレスを受けた際に代謝により生成するとされており¹²⁾¹³⁾，今回も同様の結果が得られた。

一方，熟成中はGABAの濃度に大きな変動は認められず，4か経過時点では810mg/100g乾物であった。これは，製

品に換算すると約300mg/100gに相当する。他産地の大根漬物では，製品化前の脱塩，調味工程によりGABAが流出し，1/2程度に減少することが知られている¹⁴⁾。低塩分仕込みの山川漬では，これらの工程が不要であるため，熟成後の高含有GABAがそのまま製品に移行すると推察された。

3. 1で論じた含硫化合物が微生物の生育に及ぼす影響と合わせると以下のように考察できる。すなわち，原料である大根を乾燥することで，硫化水素やDMTS等の含硫化合物が発生する。この干し大根を甕に密封することで，甕内に抗菌活性を持つ含硫化合物が充満し，産膜酵母等の汚染微生物の増殖を抑制でき，結果として常温，低塩分であっても安全に熟成できる。また，低塩分で仕込むことができることから，製品化前の脱塩，調味工程が不要となり，大根の乾燥工程で生じたGABAがそのまま山川漬製品に移行するため，他の大根漬物よりGABA高含有となることが明らかとなった。

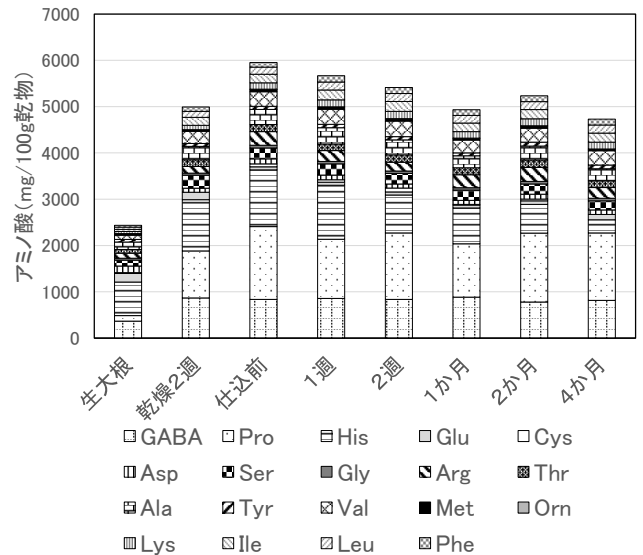


図5 アミノ酸の推移

4. 結 言

鹿児島県の伝統発酵食品である山川漬について，特有の製造方法と品質との関連性について明らかにするため，原料から放出される揮発成分の抗菌性や熟成中の微生物数，呈味成分の推移を精査したところ以下の知見を得た。

- (1) 大根から放出される含硫化合物は、汚染微生物の一つである産膜酵母に対する強い抗菌活性を持ち、発酵に主要な役割を持つと考えられる乳酸菌には抗菌活性を持たないことがわかった。これにより常温、低塩分の環境であつても微生物汚染することなく長期間にわたって熟成できることを明らかにした。
- (2) 山川漬は、低塩分で仕込むことができることから、製品化前の脱塩、調味工程が不要である。このため大根の乾燥工程で生じたGABAがそのまま山川漬製品に移行し、他の大根漬物よりGABA高含有となることを明らかにした。
- 3) 下田満哉, 綾野茂, 前田久夫, 末綱邦男, 箴島豊: 日本農芸化学会誌, **58**(12), 1217-1223(1984)
- 4) 富吉彩加, 安藤義則, 亀澤浩幸, 瀬戸口眞治: 鹿児島県工業技術センター研究報告, **30**, 1-6(2016)
- 5) 松原英隆, 今村弥生: 日本醸造協会誌, **106**(7), 493-501(2011)
- 6) “食品衛生検査指針微生物編”: 社団法人日本食品衛生協会 (1990) p. 67
- 7) 飯田孝彦ら: 東京都立産業技術センター研究報告, **5**, 116-117 (2010)
- 8) 金和子: 日本家政学会誌, **46**(5), 413-421(1995)
- 9) “食品衛生検査指針理化学編”: 社団法人日本食品衛生協会 (1991) p. 75
- 10) 石川健一, 加藤丈雄, 小宮孝志: 日本食品科学工学会誌, **46**, 311-318(1999)
- 11) 藤波博子, 望月努, 佐川巖, 毛利光之: 日本醸造協会誌, **78**, 466-474(1983)
- 12) 水野時子, 佐々木弘子: 日本食生活学会誌, **26**, 139-142(2015)

謝 辞

本研究を進めるにあたり、原料提供や甕内の揮発成分分析では(有)内菌賢漬物店の内菌幸一氏に、乳酸菌株の提供では鹿児島大学農学部藤田清貴准教授に、多大なる協力をいただきました。ここに深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 瀬戸口眞治, 鶴木隆文, 下野かおり, 前野一朗: 鹿児島県工業技術センター研究報告, **19**, 11-14(2005)
- 2) 消費者庁機能性表示食品の届出情報検索 https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_with_function_claims/search/ (閲覧日 2022-7-21)
- 13) 加藤亮ら: 日本食品科学工学会誌, **62**, 492-500 (2015)
- 14) 長友絵美, 福山明子, 柚木崎千鶴子: 宮崎県食品開発センター研究報告, **54**, 75-77(2009)

