

GABA 生産乳酸菌の非加熱発酵ソーセージへの応用

寺島晃也^{1)*}, 多田耕太郎²⁾, 加藤一郎¹⁾, 中川義久¹⁾, 平野 寛¹⁾, 鈴木敏郎²⁾

¹⁾富山県農林水産総合技術センター食品研究所 〒939-8153 富山県富山市吉岡 360

²⁾東京農業大学農学部畜産学科 〒243-0034 神奈川県厚木市船子 1737

GABA 生産乳酸菌である *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、以下の結果を得た。① *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大きく増殖し、発酵 3 日目に 10^9 CFU/g レベルに達した。② *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。③ 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。④ GABA (乾物 100 g あたり) は *L. brevis* 0910 区では 600 mg, *L. buchneri* 1001 区では 3000 mg 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。⑤ 総遊離アミノ酸量 (乾物 100 g あたり) は *L. buchneri* 1001 区が 2300 mg と最も多く、次いで *L. brevis* 0910 区の 2200 mg, コントロール区の 2000 mg, *L. plantarum* 区の 1800 mg となった。⑥ 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。堅さは *L. plantarum* 区に比べ *L. brevis* 0910 区, *L. buchneri* 1001 区は脆かった。⑦ 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。

キーワード: γ -アミノ酪酸, 乳酸菌, 非加熱発酵ソーセージ

序 文

γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid: GABA) は哺乳動物の中樞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。GABA 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の生理作用が報告されており (梶本ら, 2004; 中村ら, 2000; 岡田ら, 2000; 大森ら, 1987; 吉國ら, 2008), 茶やチョコレート, 乳飲料などの GABA 含有食品が多数販売され、大きな市場を形成している。近年、乳酸菌の一部に GABA 生成能を有するものが見いだされ、乳酸菌により GABA 含量を高めた食品の製造が試みられている (愛宕, 2002; 早川ら, 1997; 野村ら, 1999; 上野ら, 2007)。著者らは GABA を生産する乳酸菌を富山県の伝統食品や自然産物などで探索した結果、2 株の GABA 生産乳酸菌を分離した (寺島ら, 2012)。この 2 株はそれぞれ富山県の伝統食品である「ますずし」, 「かぶらずし」より分離したもので、16S rRNA 遺伝子塩基配列の解析から、*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*

と同定された。乳酸菌をスターターとして利用する代表的な畜肉食品に非加熱発酵ソーセージがある。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、亜硝酸塩、食塩、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。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を与える。現在、発酵ソーセージのスターターとして、*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* などが利用されており、スターターカルチャーの種類によって製品の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 (芳賀ら, 1994; 加藤ら, 1990a, 1990b, 1994; 三上ら, 1998; 森岡ら, 1996; 沼田ら, 1988)。本報では分離した 2 株の GABA 生産乳酸菌をスターターとして用いて発酵ソーセージを製造し、発酵熟成中の微生物変化、化学的变化およびその品質について検討した。

材料と方法

1) スターターカルチャーの調製

富山県産食品から単離した GABA 生産乳酸菌 2 株, *Lactobacillus brevis* 0910 (ますずしより分離),

*Corresponding author

E-mail: teruya@agri.pref.toyama.jp

Accepted: January 13, 2012

Lactobacillus buchneri 1001 (かぶらずしより分離) および発酵食肉製品の製造に広く利用されている *Lactobacillus plantarum* (協和ハイフーズ社製 LPT: 発酵ソーセージ用) を供試菌株とした。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℃, 48 時間, *L. plantarum* は 30℃, 24 時間それぞれ静置培養した。培養後, 遠心分離 (3000 rpm, 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溶液とした。

2) 発酵ソーセージの調製

Table 1 の配合および Fig. 1 の方法に従って発酵ソーセージを調製した。3 mm 目のプレート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, グルタミン酸ナトリウム, グルコースをミートミキサーを用い十分に混合した。次に 3 菌種の乳酸菌スター溶液をそれぞれ, 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 PR-2KP) 内に懸吊し, 温度 25℃, 湿度 80% で 5 日間発酵を行い, 次に温度 25℃, 湿度 75% で 15 日間, さらに温度 20℃, 湿度 75% で 10 日間乾燥熟成を行った。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, 1 日 1 回, 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, 30 日目に発酵ソーセージを採取し, 以後の試料とした。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) 微生物の測定

試料 10 g を 90 ml の滅菌生理食塩水でホモジナイズしたものについて, 乳酸菌数はシクロヘキシミドとアジ化ナトリウムを 10 ppm 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, 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, それぞれ培養後, 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, サルモネラは 10 CFU/g である。

Table 1 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%

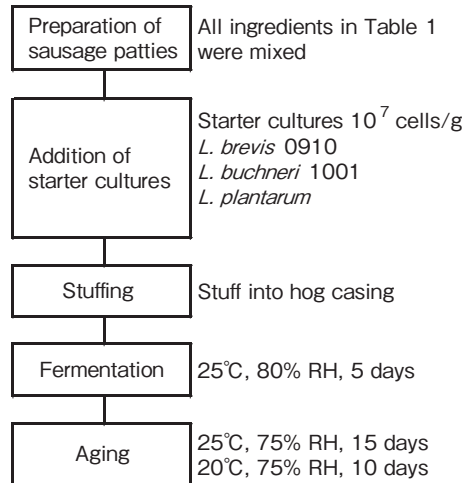


Fig.1 Preparation of fermented sausages

4) 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。

5) 水分量の測定

試料 3 ~ 5 g を細切り後, 常圧乾燥法 (135℃, 2 時間) で測定した。

6) GABA, グルタミン酸, 総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 30 ml 加えホモジナイズ後, 遠心分離し (3000 rpm, 10 分間), 上澄を採取した。これを 3 回繰り返した後, 90% 水酸化カリウムを用い pH 2.0 に調整後 100 ml に定容し, 0.45 μm フィルターでろ過した。続いてろ液をアミノ酸分析計 (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で検出した。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, 製造時に添加している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。

7) 乳酸量の測定

遊離アミノ酸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 (8.0 mmID×300 mmL) および SCR-102H (7.9 mmID×300 mmL) 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。

8) 色調の測定

試料を厚さ 10 mm に切断し、その切断面について色彩計（島津製作所 CLR-7100F）を用い、L*（明度）、a*（赤色度）、b*（黄色度）、C*（彩度）を測定した。

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。すなわち、レオナー（山電 RE-3305）を用い、厚さ 20 mm に切断した円柱状試料を直径 3 mm の球状プランジャーにより、速度 60 mm/min で試料厚さの 75% まで押し潰した時の最大荷重を測定した。

10) 官能検査

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 2 mm にスライスしたのについて 10 人のパネラーにより、外観、香り、酸味、堅さ、総合の各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 段階評価法で実施した。

結果および考察

1) 水分量の変化

Fig. 2 に発酵熟成期間におけるソーセージの水分量の変化を示した。4 試験区にほとんど差は認められず、いずれも発酵開始時は約 65% の水分量であったが、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見られなかった。

2) 微生物の変化

Fig. 3 に発酵熟成期間におけるソーセージの乳酸菌数の変化を示した。発酵開始時、コントロール区は原

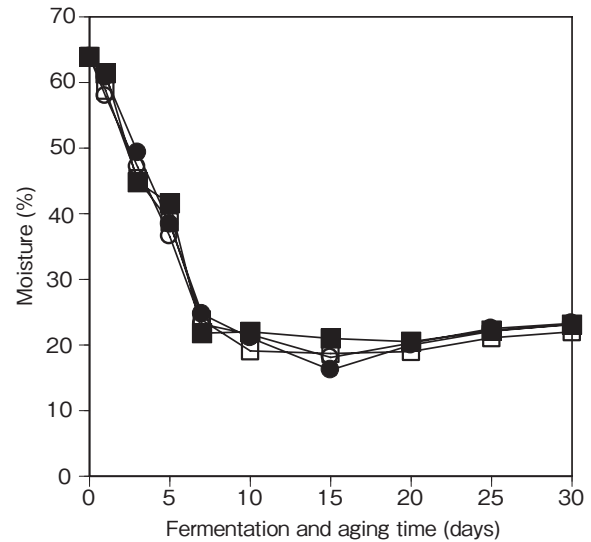


Fig. 2 Changes in moisture content during fermentation of sausages

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

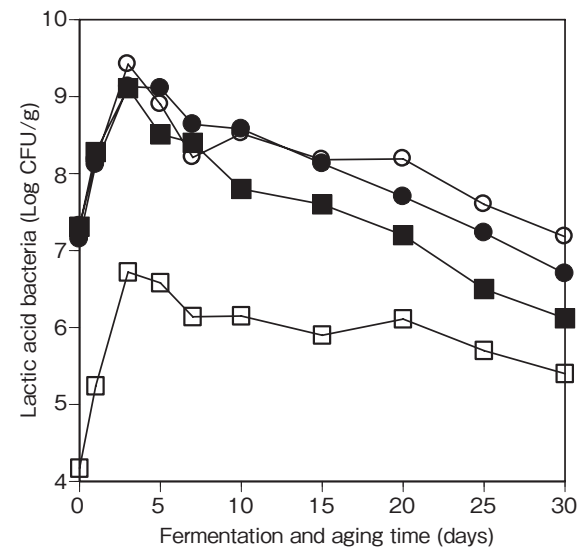


Fig. 3 Changes in lactic acid bacterial counts during fermentation of sausages

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

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、*L. plantarum* 区の 3 区は発酵熟成期間中ほぼ同じ増加傾向を示し、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菌種となることが求められ（加藤，1991），*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生産乳酸菌は *L. plantarum* と同様に発酵初期に大きく増殖した。供試したGABA生産乳酸菌は食肉製品ではなく、まずずし、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）。

3) 乳酸量の変化

発酵熟成期間におけるソーセージの乳酸量の変化を Fig. 4 に示した。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 100 g 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 1600 mg であった。*L. plantarum* 区では速やかに乳酸が生成され、発酵1日目で約 2700 mg、3日目までに約 4000 mg となり、以後は変化が認められなかった。一方、*L. brevis* 0910 区、*L. buchneri* 1001 区の2区については、ほぼ同様の傾向を示し、発酵3日目に約 2500 mg、5日目に約 3000 mg となり、以後変化は認められなかった。コントロール区では発酵熟成期間を通じて少量の乳酸しか生成されなかった。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 2400 mg）の乳酸が生成されたのに対し、GABA生産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 1400 mg と *L. plantarum* 区の6割程度となった。2株のGABA生産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. 3），*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となった。

4) pH の変化

発酵熟成期間におけるソーセージの pH の変化を Fig. 5 に示した。全試験区とも発酵開始時の pH は 6.1

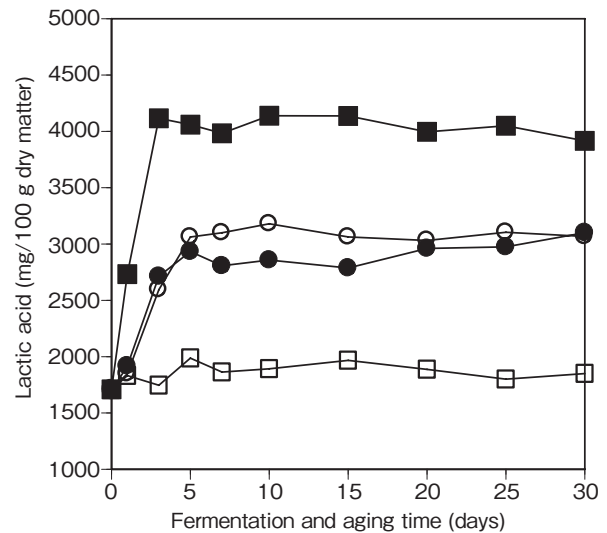


Fig. 4 Changes in lactic acid content during fermentation of sausages

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

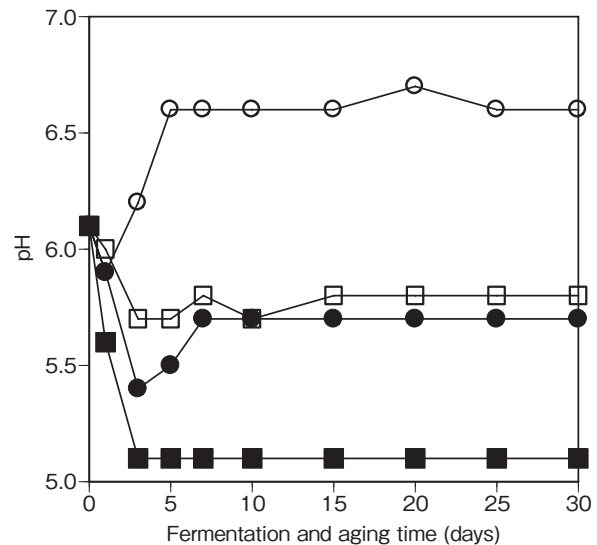


Fig. 5 Changes in pH values during fermentation of sausages

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

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日目で 5.1 まで低下し、以後はそれを維持した。*L. brevis* 0910 区は発酵3日目までに 5.3 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 区では発酵1日目に 5.8 に下がり、3日目から上昇し、5日目までに 6.7 となり、以後はそれを維

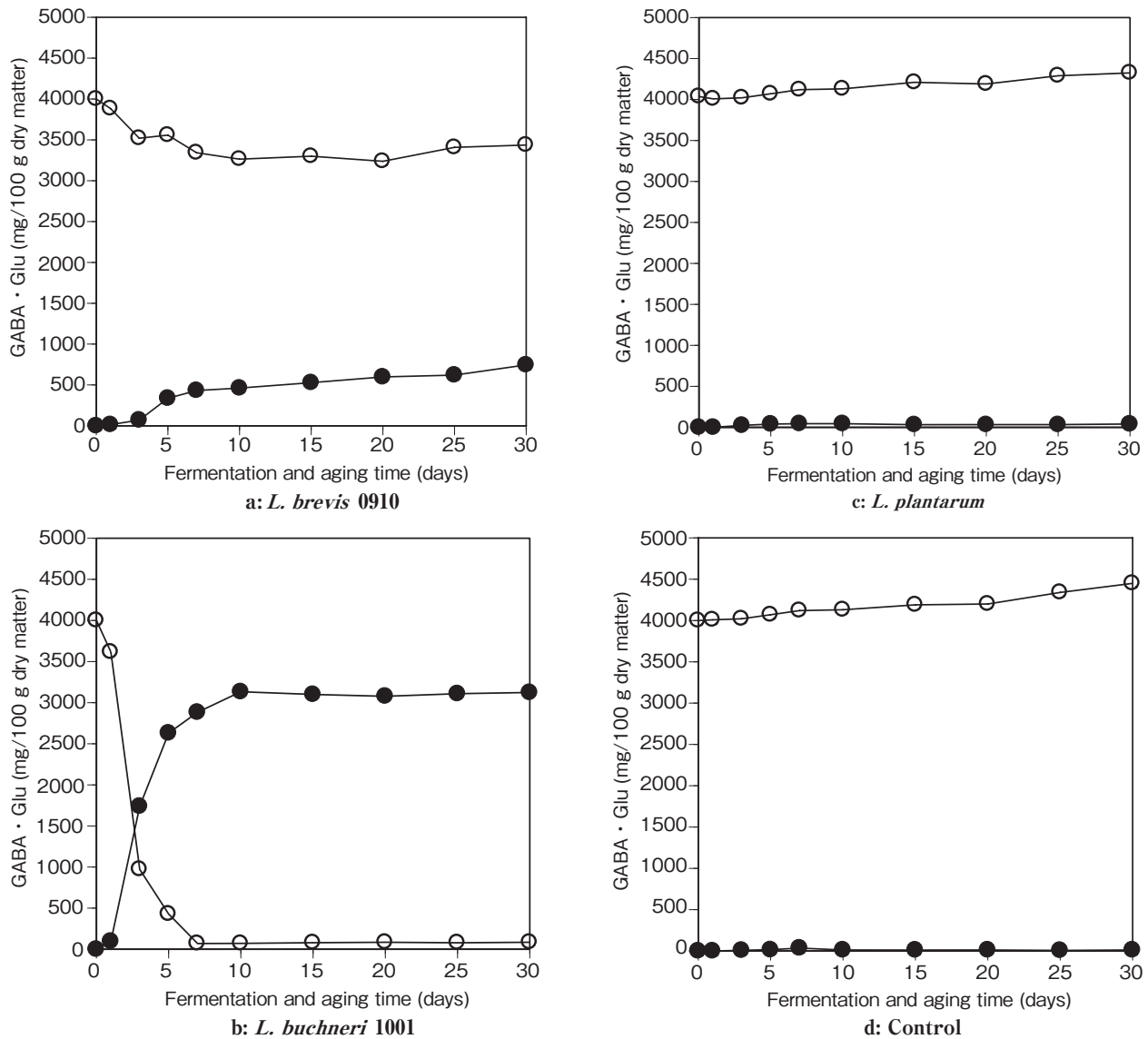


Fig. 6 Changes in GABA and glutamic acid content during fermentation of sausages
 ●- GABA, ○- Glutamic acid

持した。コントロール区は3日目までに5.7まで下がりその後それを維持した。*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により pH は急速に低下し、発酵熟成全期間中維持される。GABA 生産乳酸菌添加区で pH が上昇したのは、乳酸を生成するものの (Fig. 4), GABA 生成時のグルタミン酸脱炭酸による pH 上昇 (Sanders *et al.*, 1998) が乳酸による pH 低下に優ったためと推察された。

5) GABA およびグルタミン酸量の変化

Fig. 6 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変化 (乾物 100 g 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 600 mg となった。グルタミン酸は GABA の生成とともに減少したが、30日目でも 3500 mg が残存していた (Fig. 6a)。*L. buchneri* 1001 区は発酵1日目から GABA が生産され、3日目に大きく増加し、発酵熟成10日目に 3000 mg 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

4000 mg 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40 mgとなり、ほぼ全てのグルタミン酸がGABAに変換された (Fig. 6b). *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. グルタミン酸は肉タンパク質の分解に伴う増加があり、発酵熟成30日目のグルタミン酸量は発酵開始時に比べ300~500 mg増加していた (Fig. 6c, d). 以上の結果より、今回供試したGABA生産乳酸菌は2株とも発酵ソーセージにおいて、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、高いGABA生成能を有することが明らかとなった. 発酵熟成30日目の *L. buchneri* 1001 区のGABA量は100 gあたり3000 mgと、多量のGABAを含有していた. GABAを含有する発酵乳による血圧降下作用についての研究事例では1日12.3 mgのGABA摂取により正常高値血圧者に対して高圧効果が認められたとの報告があり (梶本ら, 2004), GABA生産乳酸菌をスターターとして用いた発酵ソーセージのGABA含量は生理機能の発現には十分な量であると考えられた.

6) 総遊離アミノ酸量の変化

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の変化 (乾物100 gあたり) を Fig. 7 に示した. 発酵開始時の総遊離アミノ酸量は約450 mgであったが、各区とも熟成とともに大きく増加した. しかし、スターターの種類によって増加量は異なり、発酵熟成30日目の総遊離アミノ酸量は *L. buchneri* 1001 区が約2300 mgと最も多く、次いで *L. brevis* 0910 区の約2200 mg、コントロール区の約2000 mgで、*L. plantarum* 区は約1800 mg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、熟成中のpHがプロテアーゼ活性に影響をおよ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の有するプロテアーゼ活性の1%未満であるとの報告から (加藤, 1991), 発酵熟成中のpH変動の差が肉由来のプロテアーゼ活性に影響をおよぼしたものと推察された. 個々のアミノ酸についてはほとんどのアミノ酸は増加したが、スターターによる差が認められ、Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lysについては全区で大きく増加したが、Asn, Thr, Ser, ProについてはGABA生産

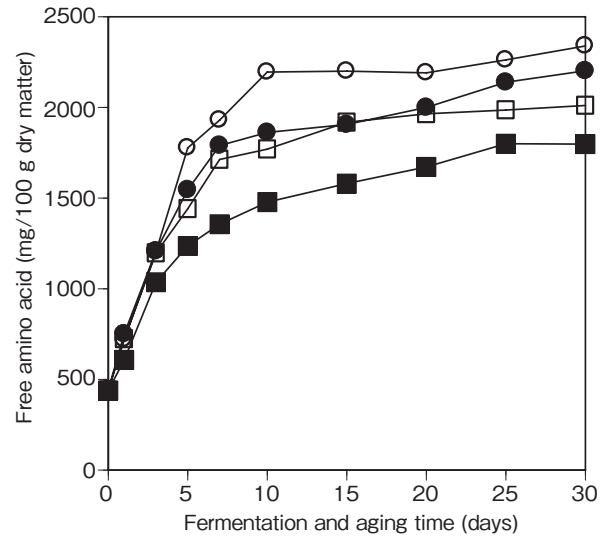


Fig. 7 Changes in the total amount of free amino acid* during fermentation of sausages

*: without glutamic acid,

●- *L. brevis* 0910, ○- *L. buchneri* 1001,

■- *L. plantarum*, □- Control

乳酸菌添加区、コントロール区では大きく増加したものの、*L. plantarum* 区での増加は少なかった (データ省略).

7) 色調および破断強度の変化

発酵熟成期間におけるソーセージの色調と破断強度の変化を Table 2 に示した. 発酵熟成30日目の *L. plantarum* 区はその他3区に比べて有意 ($P < 0.05$) に a^* 値, c^* 値が高く, L^* 値が低くなった. *L. plantarum* 区が赤みが濃く暗い, 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, やや明るめの色調であった. *L. plantarum* 区とその他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に伴い有意に高くなる傾向を示したが, 30日目では *L. plantarum* 区が4010 gに達したのに対し, *L. brevis* 0910 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, 脆い結果となった. コントロール区は2960 gで *L. plantarum* 区とGABA生産菌添加区との中間であり, 有意差が認められた. GABA生産菌添加区とコントロール区の堅さが *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, 組織が堅くならなかったためと推察された. なお, 発

Table 2 Change of color and breaking strength during fermentation of sausages

	Fermentation and aging time (days)					
	5	10	15	20	25	30
L*						
<i>L. brevis</i> 0910	51.1 ± 3.4 ^{ABa}	46.0 ± 1.7 ^{A ab}	43.7 ± 0.6 ^{A b}	45.5 ± 0.9 ^{A ab}	47.1 ± 4.2 ^{A ab}	44.0 ± 0.4 ^{A b}
<i>L. buchneri</i> 1001	52.3 ± 2.1 ^{A a}	40.1 ± 2.8 ^{B c}	45.9 ± 1.6 ^{A b}	38.8 ± 1.6 ^{B c}	43.9 ± 2.8 ^{A bc}	42.4 ± 1.3 ^{ABbc}
<i>L. plantarum</i>	53.7 ± 2.4 ^{A a}	38.7 ± 1.4 ^{B b}	38.5 ± 0.9 ^{B b}	33.8 ± 0.9 ^{C c}	39.7 ± 1.4 ^{A b}	37.6 ± 1.0 ^{C b}
Control	44.2 ± 2.4 ^{B a}	36.9 ± 0.9 ^{B b}	39.9 ± 1.0 ^{B b}	38.3 ± 1.1 ^{B b}	39.7 ± 1.7 ^{A b}	40.8 ± 0.4 ^{B ab}
a*						
<i>L. brevis</i> 0910	5.2 ± 0.1 ^{B d}	6.3 ± 0.3 ^{B c}	6.5 ± 0.3 ^{B c}	9.0 ± 0.6 ^{B ab}	8.5 ± 0.4 ^{B b}	9.4 ± 0.3 ^{B a}
<i>L. buchneri</i> 1001	4.5 ± 0.5 ^{B c}	5.1 ± 0.3 ^{B c}	4.8 ± 0.1 ^{C c}	6.1 ± 0.4 ^{C b}	9.2 ± 0.4 ^{B a}	9.3 ± 0.3 ^{B a}
<i>L. plantarum</i>	10.0 ± 1.0 ^{A c}	12.5 ± 0.9 ^{A b}	12.5 ± 1.0 ^{A b}	14.3 ± 0.3 ^{A ab}	12.8 ± 1.1 ^{A b}	15.0 ± 0.4 ^{A a}
Control	10.5 ± 1.1 ^{A b}	12.6 ± 1.0 ^{A a}	7.4 ± 0.1 ^{B b}	9.7 ± 0.0 ^{B b}	11.4 ± 0.3 ^{A a}	9.0 ± 0.3 ^{B b}
b*						
<i>L. brevis</i> 0910	7.1 ± 0.3 ^{D b}	12.2 ± 0.9 ^{ABa}	12.2 ± 1.0 ^{ABa}	12.5 ± 2.0 ^{A a}	12.4 ± 1.4 ^{ABa}	12.8 ± 0.7 ^{ABa}
<i>L. buchneri</i> 1001	15.3 ± 0.6 ^{A a}	13.3 ± 0.6 ^{A ab}	13.7 ± 1.7 ^{A ab}	13.5 ± 0.4 ^{A ab}	12.2 ± 0.7 ^{ABb}	12.0 ± 0.3 ^{B b}
<i>L. plantarum</i>	13.0 ± 0.9 ^{B ab}	13.7 ± 0.7 ^{A ab}	10.4 ± 0.1 ^{B c}	12.3 ± 0.9 ^{A b}	14.2 ± 0.1 ^{A a}	14.0 ± 0.4 ^{A a}
Control	9.3 ± 0.7 ^{C c}	10.7 ± 1.0 ^{B bc}	8.2 ± 0.9 ^{B c}	11.1 ± 0.3 ^{A b}	10.8 ± 0.4 ^{B bc}	12.9 ± 0.6 ^{ABa}
c*						
<i>L. brevis</i> 0910	8.8 ± 0.3 ^{B c}	13.7 ± 0.6 ^{B b}	13.8 ± 0.6 ^{B b}	15.4 ± 0.3 ^{B a}	15.1 ± 1.1 ^{B ab}	15.9 ± 0.4 ^{B a}
<i>L. buchneri</i> 1001	15.5 ± 0.9 ^{A a}	14.2 ± 2.3 ^{B a}	14.5 ± 0.6 ^{ABa}	14.8 ± 1.0 ^{B a}	15.3 ± 0.7 ^{B a}	15.2 ± 0.6 ^{B a}
<i>L. plantarum</i>	16.4 ± 2.1 ^{A b}	18.5 ± 0.4 ^{A ab}	16.2 ± 0.6 ^{A b}	18.9 ± 0.6 ^{A ab}	19.1 ± 0.9 ^{A a}	20.5 ± 0.9 ^{A a}
Control	14.1 ± 1.1 ^{A b}	16.5 ± 0.9 ^{ABa}	11.1 ± 1.3 ^{C c}	14.8 ± 0.6 ^{B ab}	15.7 ± 1.0 ^{B ab}	15.8 ± 0.1 ^{B ab}
Breaking strength (g)						
<i>L. brevis</i> 0910	300 ± 14 ^{B c}	1440 ± 57 ^{B b}	1850 ± 85 ^{C a}	1990 ± 71 ^{C a}	1930 ± 85 ^{C a}	2010 ± 269 ^{C a}
<i>L. buchneri</i> 1001	280 ± 14 ^{B c}	1300 ± 71 ^{B b}	1370 ± 99 ^{D b}	1870 ± 127 ^{C a}	1710 ± 184 ^{C a}	1850 ± 99 ^{C a}
<i>L. plantarum</i>	370 ± 42 ^{A c}	2930 ± 240 ^{A b}	4030 ± 127 ^{A a}	3990 ± 71 ^{A a}	4080 ± 410 ^{A a}	4010 ± 42 ^{A a}
Control	290 ± 14 ^{B c}	2640 ± 325 ^{A b}	2820 ± 226 ^{B ab}	2940 ± 156 ^{B ab}	3260 ± 212 ^{B a}	2960 ± 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.

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 区間で有意差は認められなかった。

8) 外観

L. plantarum 区と GABA を多量に生産した *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. 8 に示した。 *L. plantarum* 区 (b) 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堅いことから、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 (a) はいびつな形状を呈し、空隙があり組織が脆く、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。

9) 官能試験

官能試験の結果を Table 3 に示した。 *L. plantarum* 区が外観と総合評価で有意 (P<0.05) に GABA 生産

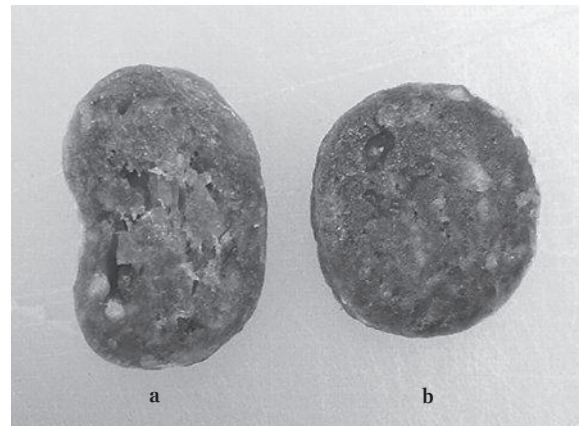


Fig. 8 Photograph of sausages. a: *L. buchneri* 1001, b: *L. plantarum*. The sausage were fermented and aged for 30 days.

菌添加区より高い評価となった。 GABA 生産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歯ごたえがないことが要

Table 3 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.

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 生産菌添加区で同程度の評価となった。なお、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。

10) まとめ

以上の結果、今回供試した GABA 生産乳酸菌は 2 株ともソーセージにおいて、GABA を生成する能力があり、多量の GABA を含有する発酵ソーセージを得ることができた。なかでも *L. buchneri* 1001 は添加した 2% のグルタミン酸を全て GABA に変換しており、高い GABA 生成能を有することが明らかとなった。通常、GABA 含有食品は精製された GABA を添加し製造されているが、GABA 生産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の製造に用いら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、今回の試験では微生物の汚染が少ない原料肉を使い、水分含量を速やかに低下させたことで、食中毒菌は検出されなかったが、GABA 生産乳酸菌においては pH の低下による食中毒菌の抑制が期待できないため、汚染された原料肉を使用した際には、衛生的な問題が発生する可能性もある。これらの結果から、GABA 生産乳酸菌を発酵ソーセージのスターターとして用いるには① *L. plantarum* や *P. acidilactici* 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 を下げることが必要と考えられた。

文 献

愛宕世高 2002. 漬物由来微生物を用いた GABA 含有

発酵液および機能性素材の開発. ジャパンフードサイエンス **2002-9**: 85-90.

芳賀聖一, 加藤丈雄, 小塚和弘 1994. 低温乳酸菌を利用した発酵ハムの品質に及ぼす塩漬・発酵時間の影響. 日本食品工業学会誌 **41**: 797-802.

早川 潔, 上野義栄, 河村真也, 谷口良三, 小田耕平 1997. 乳酸菌による γ -アミノ酪酸の生産. 生物工学会誌 **75**: 239-244.

梶本修身, 平田 洋, 中川聡史, 梶本佳孝, 早川和仁, 木村雅行 2004. GABA 含有はっ酵乳製品の正常高値血圧者に対する降圧効果. 日本食品工業学会誌 **51**: 79-86.

加藤丈雄 1991. 乳酸菌を利用した発酵ソーセージに関する基礎的研究. 日本食品工業学会誌 **38**: 1063-1069.

加藤丈雄, 土井梅幸, 米山由紀子, 杉本勝之, 中村良 1994. 低温性乳酸菌の分離と発酵肉製品への利用. 日本食品工業学会誌 **41**: 108-115.

加藤丈雄, 坂谷龍憲, 野瀬正敏, 田原豊之, 杉本勝之, 佐藤 泰 1990a. 乳酸菌を利用した非加熱殺菌型セミドライ発酵ソーセージ製造に関する基礎的研究. 日本食品工業学会誌 **37**: 248-255.

加藤丈雄, 田原豊之, 杉本勝之, 佐藤 泰 1990b. 発酵ソーセージ熟成中の蛋白質分解について. 日本食品工業学会誌 **37**: 715-721.

三上正幸, 川島寿子, 関川三男 1998. 細菌性スターターカルチャーを添加した非加熱発酵ソーセージの微生物的および理化学的性状について. 日本畜産学会報 **69**: 53-61.

森岡 豊, 野原英夫, 荒木美穂, 鈴木美紀, 沼田正寛 1996. 有用微生物を用いたソフトサラミソーセージの発酵について. 日本畜産学会報 **67**: 204-210.

中村寿雄, 松林恒夫, 蒲池加寿子, 長谷川節, 安藤洋太郎, 大森正司 2000. γ -アミノ酪酸 (GABA) 富化クロレラは高血圧自然発症ラット (SHR) の血圧上昇を抑制する. 日本農芸化学会誌 **74**: 907-909.

野村 将, 染谷幸雄, 古川左近, 鈴木一郎 1999. 熱処理した *Lactococcus lactis* 添加によるチーズへの

- γ -アミノ酪酸蓄積法. 日本畜産学会報 **70**: 397-402.
- 沼田正寛, 富家崇弘, 橋本小由利, 中村豊郎 1988. カビ発酵サラミソーセージの熟成風味発現に及ぼす熟成・乾燥期間中の微生物変化. 日本畜産学会報 **59**: 12-22.
- 岡田忠司, 杉下朋子, 村上太郎, 村井弘道, 三枝貴代, 堀野俊郎, 小野田明彦, 梶本修身, 高橋 励, 高橋丈夫 2000. γ -アミノ酪酸蓄積脱脂コメ胚芽の経口投与における更年期障害及び初老期精神障害に対する効果. 日本食品科学工学会誌 **47**: 596-603.
- 大森正司, 矢野とし子, 岡田順子, 津志田藤二郎, 村井敏信, 樋口 満 1987. 嫌気処理茶(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.
- Sanders, J.W., Leenhouts, K., Burghoorn, J., Brands, J.R., Venema, G. & Kok, J. 1998. A chloride-inducible acid resistance mechanism in *Lactococcus lactis* and its regulation. Mol. Microbiol. **27**: 299-310.
- 寺島晃也, 多田耕太郎, 加藤一郎, 中川義久, 平野寛, 鈴木敏郎 2012. 富山県地域資源からの γ -アミノ酪酸 (GABA) 生産乳酸菌の分離. 日本微生物資源学会誌 **28**: 11-18.
- 上野義栄, 平賀和三, 森 義治, 小田耕平 2007. 漬物から γ -アミノ酪酸 (GABA) 高生産性乳酸菌の分離とその応用. 生物工学会誌 **85**: 109-114.
- 吉國義明, 堀江健二, 谷川鯉沙, 横越英彦 2008. GABA の製法・安全性・効能効果に関する最近の進捗. FFI ジャーナル **213**: 1145-1156.

Application of lactic acid bacteria producing γ -aminobutyric acid (GABA) to fermented sausage

Teruya Terashima¹⁾, Kotaro Tada²⁾, Ichiro Kato¹⁾, Yoshihisa Nakagawa¹⁾, Hiroshi Hirano¹⁾ and Toshiro Suzuki²⁾

¹⁾Toyama Prefectural Agricultural, Forestry & Fisheries Research Center, Food Research Institute

²⁾Department of Agriculture, Faculty of Animal Science, Tokyo University of Agriculture

By using each of *Lactobacillus brevis* 0910 and *Lactobacillus buchneri* 1001, which are lactic acid bacteria that produce γ -aminobutyric acid (GABA), as a starter, fermented sausage was made on an experimental basis, and comparison with *Lactobacillus plantarum* was made. The obtained results were summarized as follows: (1) The number of cells of *L. brevis* 0910 and *L. buchneri* 1001 in sausages increased to 10^9 CFU/g after 3-day fermentation in the same way as *L. plantarum*. (2) Lactic acid content in sausages by *L. brevis* 0910 and *L. buchneri* 1001 constituted about 60 percent of that of *L. plantarum*. The growth of the former strains was also slower. (3) Sausages by *L. brevis* 0910 contained 600 mg/100 g D.M. of GABA, while those with *L. buchneri* 1001 did 3,000 mg/100 g D.M. (4) The color of the sausage in *L. plantarum* was dark red found typically in salami sausage and the texture was hard. Sausages by *L. brevis* 0910 and *L. buchneri* 1001 were light red and slightly brighter in color, and the texture were brittle. (5) The result of a sensory evaluation showed that *L. brevis* 0910 and *L. buchneri* 1001 had a lower evaluation score than *L. plantarum* in appearance and overall assessment

(担当編集委員: 田中尚人)