

γ-アミノ酪酸 (GABA) 高生産性乳酸菌を用いた発酵ソーセージの製造

行森美枝*・平田祐介**・侯 歌川***・青山哲哉****・宮本 拓***・山田徹夫**

Application of lactic acid bacteria with high γ -aminobutyric acid productivity to fermented sausage

Mie YUKIMORI, Yusuke HIRATA, Gechuan HOU, Tetsuya AOYAMA, Taku MIYAMOTO and Tetsuo YAMADA

要 約

岡山県蒜山地域で飼養されているジャージー牛の肉を利用した新たな地域特産品として、 γ -アミノ酪酸 (GABA) を富化した発酵ソーセージの開発に取り組み、製造に利用する乳酸菌スターター及びグルタミン酸Na含有調味料の添加量が発酵ソーセージの品質に及ぼす影響を検討した。

その結果、岡山大学大学院自然科学研究科畜産食品機能学研究室で選定されたGABA高生産性乳酸菌*Lactobacillus brevis* 1056 と食肉中でよく生育し、風味改善、乳酸生成を促進することが期待できる*Lactobacillus paracasei* 34143 の2種類の乳酸菌をスターターとして利用し、GABAを富化した発酵ソーセージを製造することができた。

また、グルタミン酸Na含有調味料の添加量を増加すると、発酵ソーセージ中のGABAの生産が増加することを確認した。

キーワード : ソーセージ、GABA、乳酸菌

緒 言

岡山県は全国一のジャージー牛の飼育地であり、特に蒜山地域には約2,000頭が飼育され、その放牧風景は観光資源となっている。また、牛乳・ヨーグルト等の乳製品、精肉、ハム・ソーセージ類の肉加工品が特産品となっており、地域の活性化につながっている。

一方で、ジャージー廃用牛の肉は脂肪が黄色味を帯びており、赤身部分が黒く変色しやすいこと¹⁾から、ほとんど利用されていないため、これを食肉資源として有効に利用した新たな加工品の開発が望まれている。

そこで、蒜山酪農農業協同組合からの要望もあり、岡山大学大学院環境生命科学研究科、蒜山酪農農業協同組合、岡山県農林水産総合センター畜産研究所の三者で、外部知見活用型・産学官連携研究事業(岡山県単独事業)により、ジャージー牛肉を利用した新たな地域特産品の開発に取り組んだ。

本研究で開発する加工品は、乳酸菌を利用する発酵ソーセージである。

食肉製品における発酵の役割としては、糖の分解による酸性化と乾燥による保存性の向上、発色の促進、たんぱく質や脂肪の分解物による風味の形成、乾燥及びゲル化によるスライス性の向上などがあるが、さらにヒトの健康に良いと言われる機能性成分を生産することも知られている²⁾。最近では、食肉とヒトの健康や機能性に関する研究も行われるようになり、様々な知見が得られている³⁾。

そこで、今回、開発する加工品の特徴として機能性成分を富化することとした。目標とする機能性成分は、血圧上昇抑制効果やストレス緩和などが知られている γ -アミノ酪酸 (GABA) である²⁾。GABAを富化した発酵ソーセージの製造技術を確認する上で、開発のポイントとなるのは、GABA高生産性乳酸菌の利用技術である。

共同試験を行った岡山大学大学院環境生命科学研究科畜産食品機能学研究室では、世界各地から収集した分離乳酸菌について、その同定と生産する機能性成分の研究が行われている。本事業では、発酵食肉製品に適し、GABA生産

性の高い菌株の選定を担当し、当研究所は、そのGABA高生産性乳酸菌をスターターとして利用し、GABAを富化した発酵ソーセージの製造及び品質に及ぼす影響を検討した。

材料及び方法

1 発酵ソーセージの製造

(1) 発酵ソーセージの原料及び配合

発酵ソーセージの原料及び配合を表1に示した。

表1 発酵ソーセージの原料及び配合

原料名	配合量	備考
ジャージー牛肉	3kg	トンビ 3mmミンチ冷凍
黒豚肉	3kg	モモ肉 3mmミンチ生肉
黒豚脂肪	4kg	バラ肉 角切り冷凍
食塩	225g	
調味料	50g	グルタミン酸Naを含有
砂糖	50g	
発色剤	15g	亜硝酸Naを含有
香辛料	120g	
ブランデー	30g	
ガーリック	10g	粉末

(2) 乳酸菌スターター

乳酸菌は、岡山大学大学院環境生命科学研究科畜産食品機能学研究室で選定されたGABA生産性乳酸菌*Lactobacillus brevis* 1056 (以下、1056株)と食肉中でよく生育し、風味改善、乳酸生成を促進することが期待できる*Lactobacillus paracasei* 34143 (以下、34143株)の2種類の乳酸菌を使用した。これらの乳酸菌を液体培地で培養後、遠心分離によって集菌、洗浄した菌体を岡山大学大学院環境生命科学研究科畜産食品機能学研究室から提供を受け、スターターとして表1の配合に対して10mlを接種した。

(3) 発酵ソーセージの製造及び熟成工程

製造工程を図1に示した。



図1 製造工程

まず、原料肉をカッティングし、サイレント

カッターに入れ、香辛料、ブランデー、ガーリックを加え、攪拌後、調味料、砂糖を加え、再度攪拌した。乳酸菌スターターを接種後、亜硝酸塩入り食塩を加え、ミキシングした。生地をスタッファーに移し、ケーシング(60mm径)に充填した。この工程までは、蒜山酪農農業協同組合で行った。充填したソーセージを当所に設置した熟成庫で4週間熟成させた。

熟成工程は表2のとおりであった。

表2 熟成工程

ステップ	時間(hr)	温度(°C)	湿度(%)	備考
1日目	24	18	85	
2日目	24	17	83	
3-4日目	48	16	81	*
5-6日目	48	15	79	*
7-8日目	48	15	78	*
9-10日目	48	15	77	*
11-12日目	48	15	76	
13-28日目	96	15	75	

*15°Cで1hr冷燻

2 試験区分

(1) 乳酸菌の種類の違いによる影響

試験区分を表3に示した。

表3 試験区分

試験区	設定内容
菌無接種区	乳酸菌無接種
1056株単独区	<i>Lactobacillus brevis</i> 1056接種
1056株+34143株区	<i>Lactobacillus brevis</i> 1056及び <i>Lactobacillus paracasei</i> 34143接種
市販区	乳酸菌入り市販香辛料を使用

*グルタミン酸Na含有調味料0.5%及び砂糖0.5%添加

(2) グルタミン酸Na含有調味料の添加による影響

試験区分を表4に示した。

表4 試験区分

試験区	設定内容
Glu無添加区	グルタミン酸含有調味料無添加
Glu0.5%添加区	グルタミン酸含有調味料0.5%添加
Glu1.0%添加区	グルタミン酸含有調味料1.0%添加

*乳酸菌は1056株及び34143株を接種、砂糖0.5%添加

3 試料の採取

試料の採取は、熟成0週(蒜山酪農農業協同組合で製造・充填し、当研究所の熟成庫に入れる直前のもの)、及び熟成1週毎に4週間まで行った。

なお、各試験区ごとに3本を試料とした。

4 測定項目

(1) pHの測定

採取した発酵ソーセージは、フードプロセッサー (HITACHI HF-60) で細切し、pHメーター (SANSYO インテリジェント・ウォーターチェッカーIWC-5)、pHセンサーPE-03で測定した。

(2) 乳酸菌数の測定

発酵ソーセージをホモジナイザー (ORGANO エクスナイザー400) で260rpm, 120sec処理し、BCP加プレートカウント寒天培地で37°C、72hr培養し、測定した。

(3) GABA及びグルタミン酸の測定

細切した試料を5g秤量し、蒸留水20mlを加え、20,000rpm、60secホモジナイズし、5%スルホサリチル酸水溶液を20mlを加え、攪拌後、30min放置した。その後、3,000rpm, 10min遠心分離した上清を0.45 μ mフィルターでろ過し、アミノ酸分析機 (日本電子 全自動アミノ酸分析機JLC-500/V) で定量した。

結 果

(1) 乳酸菌の種類の違いによる影響

熟成中の乳酸菌数の変化を図2に示した。

菌無接種区においては、熟成開始時に 10^5 オーダーの乳酸菌が生存、1週間後には菌数が増加、その後、緩やかに減少する傾向にあった。

一方、1056株単独区においては、乳酸菌数は、熟成開始時 10^7 オーダーで、その後もほぼ横ばいであった。1056株+34143株区では、1週間後には 10^8 以上に増加、その後、緩やかに減少した。熟成4週間後も 10^7 オーダー生存していた。市販区でも同様の傾向がみられたが、1056株+34143株区より少ないオーダーであった。

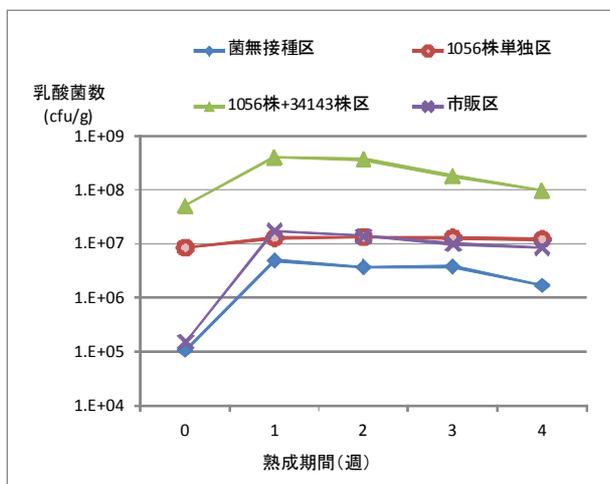


図2 熟成中の乳酸菌数の変化

次に、熟成中のpHの変化を図3に示した。

菌無接種区では、熟成中、pH約5.8と横ばいであった。1056株単独区では、pHが5.3から5.6までやや上昇傾向が見られた。1056株+34143株区及び市販区では、熟成4週間後にはpH4.6以下になっていた。

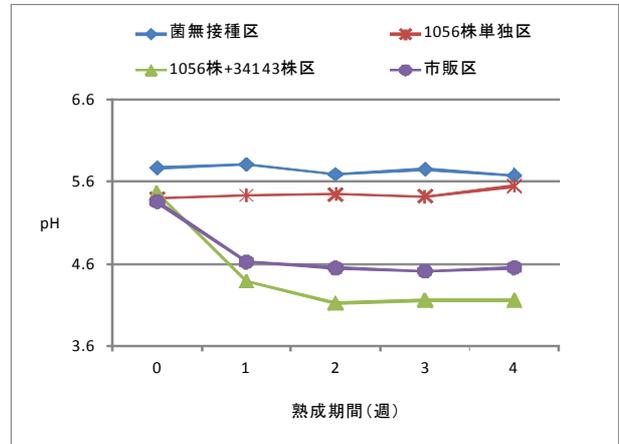


図3 熟成中のpHの変化

熟成中のソーセージ1g中に含まれるGABA含量の変化を図4に示した。

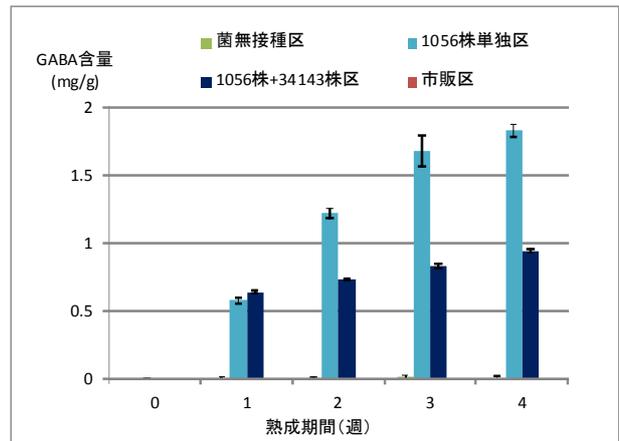


図4 熟成中のGABA含量の変化

菌無接種区及び市販区では、GABAの生産は確認できなかった。1056株単独区及び1056株+34143株区では、GABAが生産されていたが、1056株単独区では、1056株+34143株区に比べ、熟成2週間後以降GABA含量は有意に多くなっていた。

(2) グルタミン酸Na含有調味料の添加による影響

熟成中の乳酸菌数の変化を図5に示した。

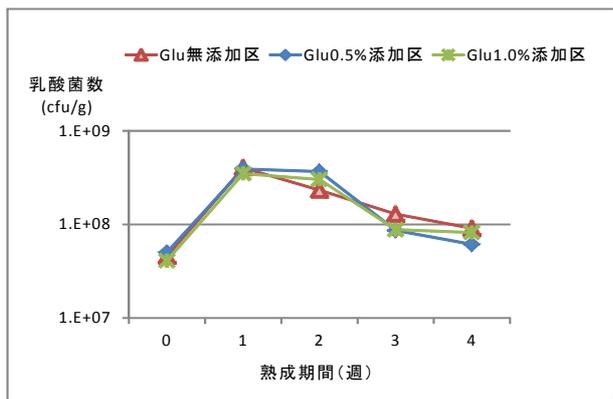


図5 熟成中の乳酸菌数の変化

いずれの区においても、1週間後には 10^8 以上に増加し、その後は減少したが、4週間後も 10^7 オーダーの乳酸菌が確認でき、グルタミン酸Naの添加による影響は認められなかった。

次に、熟成中のpHの変化を図6に示した。

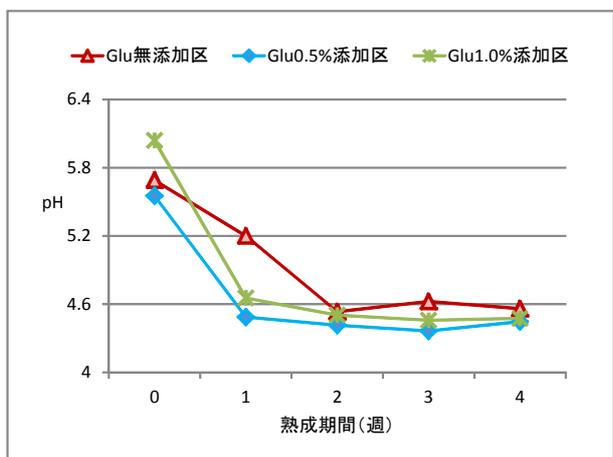


図6 熟成中のpHの変化

いずれの区においても、pHは熟成1週間後に低下し、4週間後にはpH4.6以下になっていた。

次に、熟成中のGABA含量の変化を図7に示した。

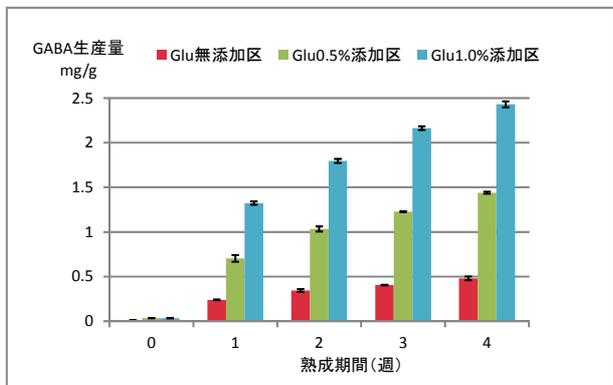


図7 熟成中のGABA含量の変化

いずれの区においても、GABAは生産されていたが、Glu無添加区では、熟成1週間後以降

はあまり生産されず、GABA含量はほぼ横ばいであった。それに対して、Glu0.5%と1.0%添加区では、熟成期間を通して、GABAが生産されていた。また、熟成1週間後以降、各区の間に有意差が認められた。

熟成中のGABA含量とグルタミン酸含量の変化を図8と図9に示した。図8はGlu無添加区を、図9はGlu0.5%及び1.0%添加区を示した。

いずれの区においても、GABAが生産された熟成1週間後まではグルタミン酸含量は減少した。しかし、それ以降は、Glu0.5%、1.0%添加区ではGABA含量は増加しているが、グルタミン酸含量はほぼ横ばい傾向にあった。

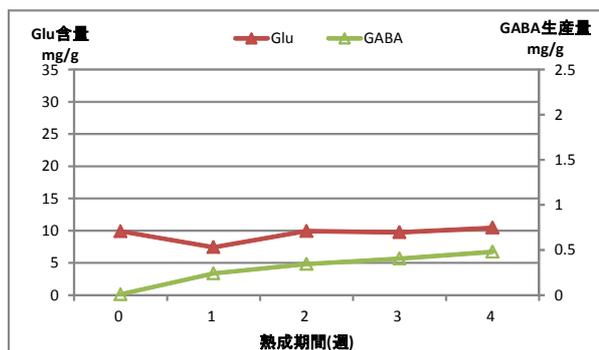


図8 グルタミン酸を添加しない時の熟成中のGABA含量とグルタミン酸含量の変化

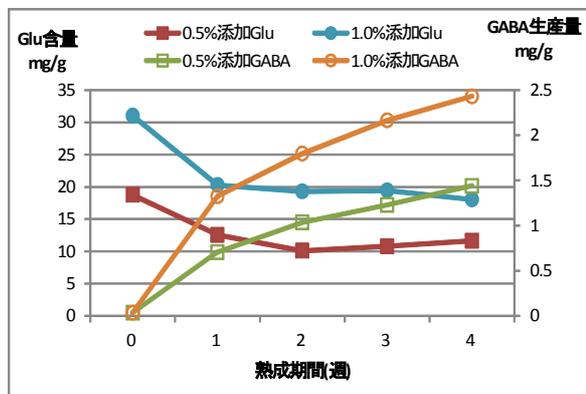


図9 グルタミン酸の添加量が熟成中のGABA含量とグルタミン酸含量に及ぼす影響

考 察

(1) 乳酸菌の種類の違いによる影響

試作した市販区の発酵ソーセージは乳酸発酵したソーセージとなっていたが、GABAは含まれていなかった。また、菌無接種区では、発色不良で、pHの低下もなく、乳酸発酵も良好でなく、品質は不良であった。

発酵ソーセージのGABA含量のみを比較すると、1056株単独区では、1056株+34143株区に比べ、約2倍のGABAの生産があった。しかし、

熟成4週間後の発酵ソーセージの断面を比較すると、1056株単独区では、断面の色が褐変しており、組織も結着が悪く、間隙も多く存在し、目視でも確認できるほどであり、商品化を考慮すると、課題が残った。

食肉製品中では、亜硝酸塩から生じる一酸化窒素とミオグロビンが反応して、ニトロシルミオグロビンが生成され、赤色に発色する。ニトロシルミオグロビンは加熱によってニトロシルヘモクロムとなり、加熱食肉製品の示す特有の赤色が固定される^{4~7)}。しかし、本試験で試作した発酵ソーセージは非加熱であることから、ニトロシルミオグロビンが、脱ニトロシル反応(酸化)によってメトミオグロビンとなり、褐変が起こったと考えられる。

グルタミン酸からのGABAの生成によりpHが上昇するとされており^{2,4,8)}、1056株単独区においては、GABAの生産によりpHが低下せず、亜硝酸NaからのNOの生成が少なく、脱ニトロシル化され退色したのではないかと推測される。

一方、1056株+34143株区では、発酵ソーセージの断面の発色も良好で、pHも市販区と同じように低下、さらに熟成4週間後も乳酸菌が生存し、乳酸発酵も良好であった。

GABA高生産性乳酸菌1056株と風味や乳酸生成が期待できる乳酸菌34143株の2種類をスターターとして使用することで、GABAを含有する発酵ソーセージの製造が実証できた。

(2) グルタミン酸Na含有調味料の添加による影響

グルタミン酸Na含有調味料の添加量を増加すると、発酵ソーセージ中のGABAの含量は増加した。

グルタミン酸については、添加したグルタミン酸が熟成1週間程度までの早い時期にGABA

に変換され、それ以降、GABAの生産が増加しているのは、添加したグルタミン酸からの生産よりも、肉の熟成によってタンパク質が分解され、それに伴い生産されたグルタミン酸から生産されたものではないかと思われた。なお、添加量によるGABA生産量の関係は、本試験では明確でなかったことから、商品化にあたってはグルタミン酸Na含有調味料の添加量を再度検討する必要がある。

また、GABA含量は4週まで直線的に増加していることから、4週間以上熟成させることにより、さらにGABA含量が高く、より品質の良い発酵ソーセージの商品化が期待された。

引用文献

- 1) 栗木ら(1999): ジャージー種雌牛の肉質と肉色変化, 日本畜産学会報, 70(10), J403-J408
- 2) 上野ら(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(3), 109-114
- 3) 林ら(2000): 食肉の科学, 41(2), 121-126
- 4) 竹岡ら(1977): 加熱肉製品の色調に対する亜硝酸塩、リジン及びアルギニンの効果について, 北海道大学農学部農場研究報告, 20, 64-72
- 5) 安井(1969): 畜肉の科学と製造, 養賢堂, 134
- 6) 坂田(2006): 食肉・食肉製品の安全性と美味しさの追求-食肉・食肉製品の色について-, 関東畜産学会報, 56(2), 88-92
- 7) 遠藤(2001): 食品の光劣化防止技術, (株)サイエンスフォーラム, 42-44
- 8) 八十川ら(2009): GABA高産生乳酸菌を用いた植物性飲料の開発, 北海道立食品加工研究センター報告, 8, 25-28