

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 18 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500758

研究課題名（和文）貝類を用いた新規  $\gamma$ -アミノ酪酸含有発酵食品の開発研究課題名（英文）Development of new fermented food including  $\gamma$ -amino butyric acid using various scallop

研究代表者

磯部 由香（ISOBE YUKA）

三重大学・教育学部・准教授

研究者番号：80218544

研究成果の概要（和文）：

著者らがこれまでに様々な食品から分離した  $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）生成乳酸菌を用いて貝類を材料とした GABA 含有新規発酵食品の開発を試みた。まず、GABA 生成の最適条件を明らかにした。次に、材料配合、衛生面向上などの前処理を含む製造条件を確立した。ホタテガイのみならず、ヒオウギガイ、アコヤガイなどの貝類を用い発酵食品の製造が可能であった。製造した発酵食品には、一部の市販の GABA 含有食品よりも多い GABA が含まれていた。

研究成果の概要（英文）：

The new fermented food made from shellfish including  $\gamma$ -amino butyric acid(GABA) was developed using the strain isolated from various food in our laboratory. The optimal condition for producing GABA was clarified. Manufacturing conditions of fermented food, such as composition of materials and sanitary pretreatment, were established. It was clarified that production of fermented food used by Japanese scallop, noble scallop (hiogi-gai), and Japanese pearl oyster was possible. The manufactured fermented food had higher GABA content than some commercial products containing GABA.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：食物学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード： $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）、乳酸菌、ホタテガイ、ヒオウギガイ

## 1. 研究開始当初の背景

近年、GABA の機能的性についての研究が盛んに行われている。これらの研究により明ら

かにされてきた GABA の生理作用は、血圧降下作用、精神安定作用、腎機能活性化作用、

機能改善作用、肥満防止作用、アルコール代謝促進作用、消臭効果など多岐に渡っている(園田、Food Style21、2002)。現在では、この機能に注目し、様々な GABA 含有食品が開発され、市場に出回るようになってきたことから、一般的に認知されるようになってきた。この GABA は植物性食品や動物の脳などに存在するほか、一部の乳酸菌により生産されることが知られており、キムチからの分離株(早川ら、生物工学会誌、1997)、ふなずしからの分離株(Komatsuzaki.et.al, Food Microbiology, 2005)などについて報告されている。

研究代表者は平成 16~18 年に採択された萌芽研究において、GABA 生成乳酸菌の分子生物学的手法を用いた検出方法の開発についての研究を行った。この研究の中で、GABA 生成能の確認方法を確立し、様々な発酵食品からの GABA 生成乳酸菌の分離を試み、研究過程において数種の GABA 生成乳酸菌を分離し、GABA 生成条件の一部を明らかにした。そこで、本研究では、上記の研究結果を発展させ、分離した GABA 生成乳酸菌を用いて GABA 含有新規発酵食品の開発を行うこととした。なお、発酵の基質となる試料には、貝類を取り上げる。これまでに、ホタテガイについては、乳酸発酵により物性を変化させることが可能であり、加納らにより発酵かまぼこの開発研究が実施されている(日本食品工業学会誌、1992)。また、これらの貝類は、生で流通されるほか、鮮度の低下が早いことから、冷凍品、乾燥品、佃煮および缶詰等に加工されているが、日本における採貝・採藻金額は平成元年には 1000 億円であったが、平成 15 年には 600 億円に減少している。そこで、消費拡大のため新たな加工方法が求められていることから、これらを試料として取り上げることとした。

## 2. 研究の目的

本研究は、貝類の有効利用の手段として、機能性を付加した新規加工食品を製造することを最終目的として行った。機能性成分としては、様々な生理的機能が明らかにされているγ-アミノ酪酸(GABA)に着目し、これを蓄積させた発酵食品の製造条件の確立を試みた。まず、発酵に用いる乳酸菌の検索を行い、材料配合について検討した。また、機能性成分の確認、衛生面の確保のための条件設定、嗜好性についての調査を実施するものである。

## 3. 研究の方法

### (1) スターターの調製

-80℃で冷凍保存されている菌体を加熱滅菌したスパテラで少量取り、MRS 寒天培地 5ml に入れ、5~7 日間培養し、MRS 寒天培地にて 20℃で培養し、出現した 1 コロニーを前培養し、これを MRS 液体培地で 20℃で 2 日間培養した。15,000×g で 15 分間遠心分離を行い、沈殿した湿菌体を 0.85%滅菌生理食塩水で洗浄後、凍結乾燥して、スターターを調製した。

### (2) GABA 含有量の測定

遠心沈殿管に試料 2g を量りとり、蒸留水 8ml を加えて 1 分間ホモゲナイズした。この試料溶液 0.9ml に 3%スルホサリチル酸ナトリウム溶液 0.9ml を加えて混合し、15,000×g で 30 分間遠心分離し、タンパク質を沈殿させた。その上清を試料溶液とし、ポストカラム誘導体化法によりオルトフタルアルデヒドで蛍光発色させ、高速液体クロマトグラフィーにて GABA 量測定を行った。

### (3) 衛生検査

一般生菌数の測定には標準寒天培地、乳酸

菌数の BCP 加プレート寒天培地、ブドウ球菌数の測定にはマンニット食塩培地、大腸菌数の測定にはデオキシコーレイト培地を用いた。

#### (4) 物性測定

直径 2.8mm、高さ 30mm のポリ容器に充填し発酵させた試料のゲル強度を判定するために、針入強度をレオメーター (RHEONER RE-3305 (株) 山電) を用いて測定した。プランジャーは平丸型 (直径 20mm) プランジャーを用い、針入速度を 0.5mm/sec の定速とした。針入強度はプランジャーがサンプル表面と接触してから 10mm 進入させるのに必要な荷重を測定した。

### 4・研究成果

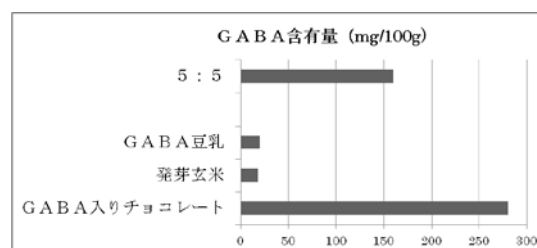
#### (1) GABA 生成乳酸菌の最適培養条件の検討

実験室保有の GABA 生成乳酸菌の GABA 生成能について調べたところ、水産発酵食品から分離した *Lactobacillus brevis* が最も高かったので、以下の実験にこれを使用した。この菌株の GABA 生成のための最適培養条件を検討したところ、グルタミン酸濃度 5%、35°C、培養期間 2 日間であった。初発 pH を pH4.0、5.5、7.0 で培養を行ったところ、最も収量が多かったのは、pH5.5 であった。

#### (2) GABA 含有発酵食品 (以下、発酵かまぼこ) の製造条件の検討

発酵材料として、三重県内で新規加工法が求められているヒオウギガイおよびアコヤガイを用いることとした。材料配合は市販のかまぼこを参考にして、貝 100g あたり食塩 2.6g、滅菌水 30ml、グルコース 13g、乳酸菌凍結菌体 0.05g を用いた。貝を包丁で細断し

た後、フードプロセッサーで 1 分間播潰、次に、食塩を添加して 3 分間播潰した後、滅菌水、乳酸菌スターター、グルコースを添加し、5 分間播潰した。調製したペーストを充填し、37°C で 4 日間、または、20°C で 7 日間培養し、発酵させた。いずれの試料も発酵により pH4 付近まで低下した。アコヤガイのみを用いた場合、pH は低下したが、凝固しなかった。また、L\*値が 40 程度と低く暗く、黒っぽい色であった。そこで、凝固させるために、ヒオウギガイを同量添加し、色相を改善するために、アコヤガイの肝を除去することにした。この条件で調製した試料は 20°C 7 日間の発酵により凝固し、L\*値も改善された。ヒオウギガイ単独の場合の GABA 含有量は 100mg/100g、混合材料の場合は、160mg/100g であった。



#### (3) 材料配合割合の検討

味の改善や健康面を考え、減糖・減塩かまぼこの調製の検討を行った。配合の違いによる pH に大きな差はなく、全ての条件でゲル形成が確認された。ゲル強度にも大きな差はなかった。官能検査では、「におい」・「生臭み」が改善されており、嗜好にも大きく影響することが分かった。以上の結果より、減糖・減塩の配合での製造も可能であると考えられる。アコヤガイ：ヒオウギガイ=5：5の割合で調製した発酵かまぼこについて、官能検査を行った。識別検査で、特に強いとされたものは、「色」・「におい」・「塩味」であった。特に弱いとされたものは、「かたさ」であり、「もろい」などの意見が多くあった。

#### (4) 嗜好検査

アコヤガイ：ヒオウギガイ＝5：5の割合で調製した発酵かまぼこについて、特に評価が低かったものは、「生臭み」と「かたさ」であり、貝類特有の生臭みや、もろい食感が不快な印象を与えているようだった。

#### (5) 衛生検査

アコヤガイ：ヒオウギガイ＝5：5の割合で調製した試料について、生菌数測定を行った。試料は、未加熱のもの、加熱したのを用いた。未加熱かまぼこ、加熱かまぼこともに、食品衛生法で問題となる黄色ブドウ球菌、大腸菌は検出されなかった。未加熱かまぼこは、一般細菌  $1.1 \times 10^9$  個/g、乳酸菌数  $1.5 \times 10^9$  個/g、加熱発酵かまぼこは、一般細菌、乳酸菌ともに 300 個/g 以下となった。以上の結果より、流通・販売における衛生面や、長期保存を考慮した場合、未加熱のものよりも、加熱殺菌したものが望ましいと考えられる。

	(単位:cells/g)			
	一般細菌	乳酸菌	黄色ブドウ球菌	大腸菌
未加熱発酵かまぼこ	$1.1 \times 10^9$	$1.5 \times 10^9$	—	—
加熱発酵かまぼこ	300以下	300以下	—	—

#### (6) 他の乳酸菌の応用

ヨーグルトなどのスターターとして用いられる *Lactobacillus casei subsp. casei* JCM1134 を用い、ヒオウギガイを食材と作成したかまぼこでは、生成した乳酸によって貝柱に付着していたブドウ球菌と大腸菌群の生育を抑制することはできなかった。そのため、前処理を行ってから発酵させることとした。塩漬け、アルコール漬け処理は、発酵が進みゲル化し、大腸菌群は殺菌することが出来たが、ブドウ球菌を殺菌することは出来なかった。また、酢漬け処理はブドウ球菌と大腸菌

群ともに殺菌出来たが、試料が酢酸によって変性してしまい、ゲルを形成できないため、利用できないことがわかった。衛生面での問題が解決できなかったため、動物を用いた安全性試験は方法を検討するに留まった。また、実験室保有株である水産発酵食品から分離した *Lactobacillus buchneri* を用いて作成したかまぼこでは、25℃4 日間の発酵で硬さは最大となり、その後、発酵が進むについて軟化する傾向が見られた。このときの、GABA 含有量は 210mg/100g であり、市販の GABA 含有食品と同程度の GABA を含む水産発酵食品の製造が可能であると考えられる。この製品においては、するめに良く類似した強いにおいであり、色は黄色味を帯びたクリーム色、乳酸菌により生成したガスにより気泡が生じ、はんぺんに類似したスポンジ状の形態であった。さらに発酵を進めると揮発性の酸が生成され、酸っぱい匂いを呈するようになる。また、同株は一般に流通しているホタテガイを材料として用いても、かまぼこを作成できることが確認できた。

#### 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

①あこや貝を用いた発酵かまぼこの開発、磯部由香、上田明日香、平島円、日本家政学会第 62 回大会 (2010.5.29)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

磯部 由香 (ISOBE YUKA)  
三重大学・教育学部・准教授  
研究者番号：80218544

##### (2) 研究分担者

中田 理恵子 (NAKATA RIEKO)  
奈良女子大学・生活環境部・講師  
研究者番号：90198119

平島 円 (HIRASHIMA MADOKA)  
三重大学・教育学部・准教授  
研究者番号：80390003