

米粉糖化乳酸発酵液の官能評価

富永美穂子, 井川 佳子, 佐藤 一精

(1997年10月1日受理)

Sensory evaluation of rice flour saccharified solutions subjected to lactic acid fermentation

Mihoko Tominaga, Yoshiko Ikawa and Kazuyoshi Sato

As one of applications of rice processing, we investigated the preparation conditions as a beverage of saccharified rice flour solutions subjected to lactic acid fermentation using a bacterium isolated from kefir. The palatabilities of the prepared beverages were evaluated by students and elderly people.

The optimum mixing ratio of glucoamylase A-treated and gluczyme-treated saccharified solutions as the beverages was 9:1, and lactic, acetic, citric, malic and succinic acids were detected in that fermented solution. The fermented solution including 3% erythritol was evaluated as most favorable by both students and elderly people. Compared with students, evaluation values of elderly people were higher for all samples, and the difference of acceptance by elderly people was small between the fermented and the non-fermented saccharified solutions. Expressions for the taste of samples were considerably different between both panels.

1. 緒 言

日本人の主食である米は、栄養的にも優れており、清酒やみそなどの発酵食品をはじめ、餅や、煎餅、和菓子など様々に加工され、利用されている。しかし、その消費は年々減少の傾向にある。一方、食料自給や稲作のもつ国土保全、自然環境維持などの面からも、米の消費拡大を図っていくことは重要であり、従来の加工品以外にも新たな利用法の開発が試みられてきている。現在では調理加工されたピラフ、炒飯、カップライスなどが手軽に利用できるようになってきているが¹⁾、今後の開発においては、高齢者にも好まれるという視点も必要ではないかと考えられる。それは、65歳以上の人口が全人口の7%から15%になるまでの期間が25年と極めて短く、わが国の高齢化は他国に類をみないスピードで進行しており²⁾、いかにして高齢者が健康で快適な日常生活を維持できるかが大きな課題となっているからである。中でも食生活はその基本であり、楽しく美味しく食べることはエネルギー源などとしての生命維持の面からはもとより、生き甲斐の一つになっているといってもよいであろう。

加齢による身体機能の老化など的高齢者の特徴を踏まえれば、消化吸収が良く、栄養的に優れ、しかも高齢者の嗜好性に合致したものが望まれてくると考えられる。そのような点を考慮しながら、著者らは米粉をアミラーゼで糖化させ、消化性や嗜好性の良好な糖化発酵飲料を調製するための検討を重ねてきた。その発酵飲料調製の際に、ケフィアから単離した乳酸菌や酵母が米粉糖化液を発酵し、フルーティーな風味形成や芳香性を有することを見出している³⁾。本研究においては、この単離乳酸菌を用い、飲料として利用していくための調製法を検討し、調製した乳酸発酵糖化液が実際に高齢者の嗜好性に合うものかどうか、学生との嗜好差を含め検討することにした。

2. 実験方法

(1)使用酵素および乳酸菌

糖化用酵素は前報³⁾に準じ、*Aspergillus oryzae* 起源のグルコアミラーゼ「アマノ」(以下、グルコアミラーゼAと略す)または *Rhizopus* 起源のグルクザイム AF6 の2種のグルコアミラーゼと *Bacillus subtilis* 起源の

α -アミラーゼのアミラーゼ AD「アマノ」(いずれも天野製薬製)を組み合わせて用いた。乳酸菌はケフィアから単離した乳酸菌(以後、ケフィア乳酸菌)を用いた。なお、ケフィア乳酸菌は、形態や生育状況などから *Leuconostoc* 種に属すると推定している。

(2) 官能検査用サンプルの調製

糖化液および糖化液発酵用培地の調製はほぼ前報³⁾に準じたが、官能検査用発酵液調製の際には三角フラスコを用い、通常の60倍にスケールアップをして調製した。その調製手順を Fig.1 に示した。10%上新粉懸濁液

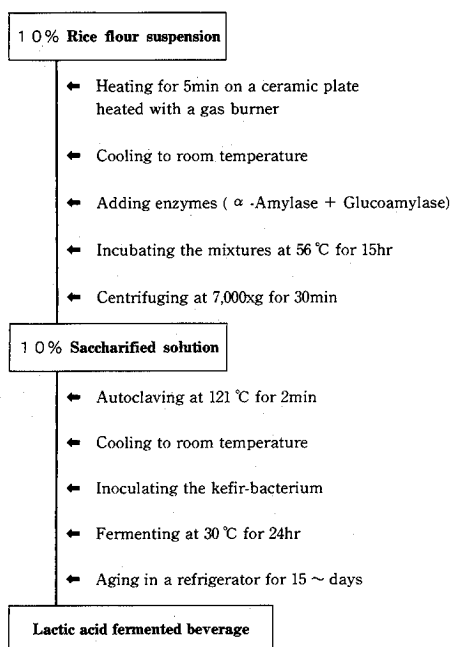


Fig.1 Preparation procedure for lactic acid fermented beverage from saccharified rice flour solution.

250mlを75~85°C程度になるまで約5分間ガス加熱し、糊化させた。糊化溶液に糖化酵素を添加し、56°Cで15時間反応させ、糖化させた。その後、遠心分離を7,000×g、30分間行いその上清を10%糖化液とした。10%グルコアミラーゼA処理糖化液および10%グルクザイム処理糖化液を9:1の割合で混合し、121°Cで2分間殺菌した。殺菌後、糖化液で培養したケフィア乳酸菌を0.5%接種し、30°Cで24時間発酵させた。その後、冷蔵庫中で15日以上保存し、熟成させた。官能検査用サンプルは(A)乳酸菌を接種していない殺菌後の糖化液と(B)上記のように調製した乳酸発酵糖化液および(C)若干酸味を和らげるために、(B)にエネルギーはほとんど有さない甘味料のエリスリトールを3%添

加したものの3種で行った。各サンプルは官能検査直前に100°Cで5分間加熱殺菌した。

(3) 官能検査

学生パネルは、広島大学の20歳以上の男子学生21名(平均年齢22.8歳)、女子学生17名(平均年齢21.2歳)、合計38名で行った。また高齢者パネルは東広島熟年大学受講者の男性4名(年齢70歳代)、女性10名(年齢60歳代)、合計14名で行った。官能検査前にパネルには調製材料、調製方法について簡単に説明した。上記(A)~(C)の3種類の試料を使い捨てのプラスチックのカップに約5ml注ぎ、横一列に並べて提示し、左から順に飲むように指示した。また、この時3つのサンプルの提示順は6通りの組合わせでそれぞれ変えて行った。検査方法は、酸味、後味、総合的な味の好みについて、順位法⁴⁾を用いるとともに、各サンプルについて総合的な嗜好性について、ヘドニックスケールを用い、非常に好きから非常に嫌いまでの7段階で評価させた。また、いくつかの形容語を示し、各サンプルの味の形容としてふさわしいものを複数個選択させた。

(4) 酸度および有機酸の定量

各酵素処理糖化液を混合比率を変えて混合し、30°Cで24時間培養したサンプルおよび官能検査に用いた発酵液の酸度とpHを中和滴定法⁵⁾およびTwin pH B-111(堀場製作所)により測定した。また、米粉糖化発酵液の含有有機酸を測定用キット(Boehringer Mannheim)により定量するとともに高速液体クロマトグラフィー(HPLC、日本分光PU-980型)により分離分析した。

(5) 統計分析⁴⁾

順位法の検定は、嗜好性の高い順に1, 2, 3位としてパネルの順位合計を計算し、Kendallの一致性の係数Wを用い、パネルの判定の一致性を判断した。その後、その順位合計をもとに各試料間に有意差があるかどうかをNewellとMacFarlaneの検定表を用いて判断した。

3. 実験結果および考察

(1) 乳酸発酵糖化液の飲料としての調製条件の検討

グルコアミラーゼA処理、グルクザイム処理の各糖化液で発酵させた発酵液について予備的に官能検査をしたところ、グルコアミラーゼA処理では乳酸菌の酸生成に必要な栄養成分が欠如しているため、酸生成がほとんど進まず、味を物足りなく感じる人が多く、逆にグルクザイム処理であると乳酸発酵がやや進みすぎ

るため、発酵液の酸味が強すぎるといった評価が得られた。そこで、両者の糖化液を混合し、嗜好性が良好と思われる混合割合について検討することにした。両糖化液を混合し、ケフィア乳酸菌を接種して、30°Cで24時間発酵させた後の酸度およびpH測定の結果をFig.2に示す。

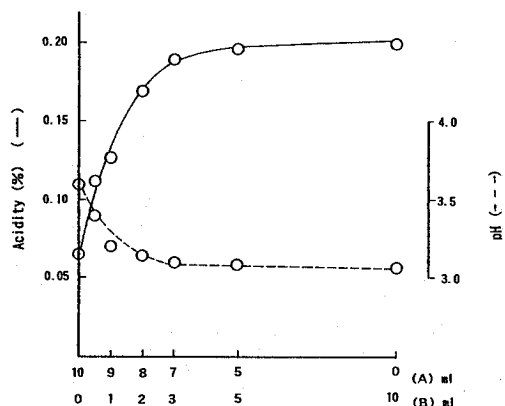


Fig.2 Effect of mixing ratio of (A) glucoamylase A-treated and (B) gluczyme-treated saccharified solution on the acid formation and pH after the fermentation by kefir-bacterium.

酸度はグルコアミラーゼA処理糖化液では0.06%、グルクザイム処理では0.20%前後で、酸生成に3倍程度の開きがあった。これは、グルコアミラーゼA処理糖化液にはイソロイシン、ロイシン、バリンのようなケフィア乳酸菌の生育に必要なアミノ酸が欠如しているためであり、それらアミノ酸の微量添加が酸生成に非常に有効に働くことをグルクザイムの自己消化物の分離分析により見出している⁶⁾。混合割合を変えて酸度を測定した結果、グルクザイム処理糖化液をグルコアミラーゼA処理糖化液に3割程度添加するだけで、グルクザイム処理のみと同様な酸度を示した。ヨーグルトの酸度は1%前後を示すのに対して、発酵糖化液の酸度はその5分の1程度とそれほど高くないが、ヨーグルトのようにミルクの緩衝作用を受けないので、pHが3程度まで下がり、そのため酸味を強く感じてしまうと思われる。

*Leuconostoc*種は低温貯蔵により、ジアセチルの生成量などが増加し、風味形成に良好なことが知られている⁷⁾。本実験においても低温貯蔵によってフルーティーさが強く感じられるようになった。混合発酵液の味と酸度を検討した結果、冷蔵貯蔵中の若干の酸度上昇を考慮するとpHが3.3前後で酸度が0.13%程度、グルコアミラーゼA処理糖化液とグルクザイム処理糖化液の混合割合が9:1程度が適当と思われる。そこで、混合割合を9:1として調製した発酵液を用いて官能検

査を行うこととした。

(2)官能検査サンプルの含有有機酸

*Leuconostoc*種はヘテロ発酵型乳酸菌であることが知られており、その菌の主な発酵生成物はD型乳酸、酢酸、エタノールである^{8,9)}。D型乳酸を主に生成する乳酸菌は少なく、菌の同定の際の指標の一つとなっている。Lee¹⁰⁾らは米粉糖化液を*L. mesenteroides*で発酵させた場合、乳酸や酢酸の他に、リンゴ酸、コハク酸などの有機酸を検出している。ケフィア乳酸菌で発酵させた場合もリンゴ風味に似たフルーティーな味が感じられることから、乳酸や酢酸以外にも別の有機酸が含まれている可能性が高いと思われる。米粉糖化乳酸発酵液の有機酸分析を行った。その結果をTable 1に示した。乳酸が主たる有機酸であり、測定キットによる分析ではD型乳酸がほとんどであった。また、乳酸の他に酢酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸が含まれていた。*Leuconostoc*種の乳酸発酵において、クエン酸が検出された報告例は他にはみられないが、そのクエン酸を含め、これら有機酸の混合で独特のフルーティーな味が感じられると思われる。

Table 1 Analysis of organic acids in lactic acid fermented beverage from saccharified rice flour solution by kefir-bacterium.

Organic acid	Contents (mg/ml)
Lactic acid	2.322
Acetic acid	0.181
Citric acid	0.102
Malic acid	0.046
Succinic acid	0.031

(3)学生の官能評価

調製した3種のサンプルについて、学生38名が酸味、後味、総合的な味の好みについて順位法⁴⁾で評価し、その順位合計をもとに各試料間に有意差があるかどうかを検定した結果をTable 2に示す。Kendallの一致性の係数W⁴⁾を求めたところ、嗜好に一致性があると判断されたので、サンプル間の嗜好差をみることにした。順位合計からいずれの評価項目においても、糖化液(A)、乳酸発酵糖化液(B)、乳酸発酵糖化液に3%エリスリトールを添加したもの(C)の順に嗜好性は高くなっており、有意差検定を行っても、男女全員の評価では後

Table 2 Rank sums and rank sums differences in ranking test of samples
- evaluation by students -

Sample ^{a)}	All (38)			Male (21)			Female (17)		
	Sour	After taste	Total	Sour	After taste	Total	Sour	After taste	Total
(A)	100	93	95	52	50	49	48	43	46
(B)	74	79	74	44	43	43	30	36	31
(C)	54	56	59	30	33	34	24	23	25
(A)-(B)	26**	14	21*	8	7	6	18**	7	15*
(A)-(C)	46**	37**	36**	22**	17*	15	24**	20**	21**
(B)-(C)	20	23*	15	14	10	9	6	13	6

^{a)} Samples : (A) Saccharified solution (mixing ratio of glucoamylase A-treated and gluczyme-treated solution = 9 : 1), (B) Lactic acid fermented saccharified solution by kefir-bacterium, (C) Lactic acid fermented saccharified solution by kefir-bacterium including 3% erythritol.

Significant differences: * P<0.05, ** P<0.01

味の (A), (B) 間を除き, 糖化液より発酵糖化液の方が嗜好性が高くなっている。また, 後味の評価を除き, (B), (C) 間には有意差は認められなかった。しかしながら, 男女別に嗜好差を比較すると男性ではいずれの評価項目においても (A), (B) 間で有意差が認められず, 総合的な評価においては3種のサンプル間に有意差が認められなかった。従って, 女性の方が嗜好性の一致度が高いと思われる。順位法により, 糖化液を発酵させたものの方が発酵させていないものより嗜好性が高いという結果が得られたが, 3種のサンプル間でどれくらい好みの幅があるのかをヘドニックスケールで評価した結果を Fig.3 (A) に示す。0 をどちらでもないとし, -3 から +3 で点数化した学生全体の評価の平均値は, 糖化液のみが -1.03, 発酵液が +0.03, 3% エリスリトール添加で +0.66 であった。度数分布でみると糖化液では, -1, -2 にピークがみられるが, 発酵させることで +1 のところにピークが移動した。評価にパラツキがみられたのは酸味が苦手なパネルもいるためと思われる。さらに 3% のエリスリトールを添加すると, マスキング効果により酸味が和らぎ, まろやかになったと考えられ, ピークが +1, +2 の方に移動している。乳酸発酵により, マイナスの評価がプラスに移動し, 若干の甘味料を添加することで評価はさらに高まっている。また, 糖化液の評価に対しては, 男女差が若干みられ, 女性の方が低くなっている。18~23歳の大学生の甘, 酸, 塩味などに対する濃度の閾値は, 女子の方がより低濃度で味の評価ができ

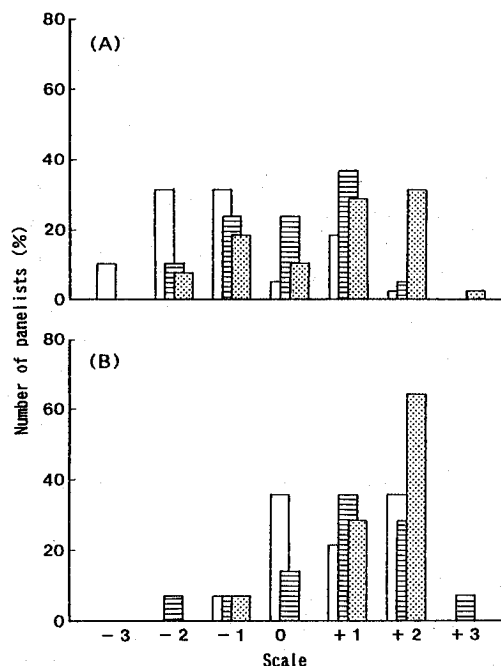


Fig.3 Sensory evaluation in hedonic scale of samples.

Panel: (A) Students, (B) Elderly people.
Sample: (□) Saccharified solution, (▨) Lactic acid fermented saccharified solution, (▩) Lactic acid fermented saccharified solution including 3% erythritol.

るという報告があり¹¹⁾実際に甘味が強すぎて生理的に

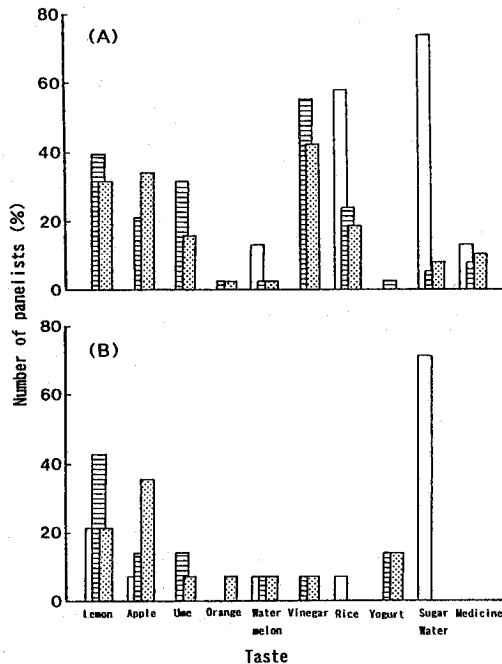


Fig.4 Expressions for taste of samples.
Panel: (A) Students, (B) Elderly people.
Sample: (□) Saccharified solution, (▨) Lactic acid fermented saccharified solution, (▩) Lactic acid fermented saccharified solution including 3% erythritol.

受け入れられにくいのか、ダイエットなどで甘味の強いものに対して心理的に抵抗感があるのか、興味深いところである。予備的にレモン風味の市販品を加えて4種で評価したところ、市販品の平均値は+1.40程度のところであり、調製した3種の平均値は本実験の場合と同程度の評価で市販品には及ばなかった。しかし、エリスリトール以外の添加物は一切添加しておらず、乳酸菌の発酵生成物だけでかなり良好なものが調製できたと考えられる。

糖化液を乳酸発酵させることでどのように味の感じが変化したかについて形容語での表現結果を Fig.4 (A) に示す。糖化液のみでは、砂糖水、米のような感じを受けるパネルが7割および5割を超えていたのが、発酵させることで、お酢のような風味とともにレモンやリンゴ、梅などのフルーティーな風味が感じられるようになり、米の風味も減っていた。また、エリスリトールを添加することでお酢や梅の風味が減り、リンゴ風味を感じるパネルが増加していた。有機酸分析の結果から主とする有機酸は乳酸であるが、ヨーグルトのような味を感じるパネルはほとんどなく、タンパク質などの他の含有成分とともに酢酸やクエン酸、リンゴ酸などの有機酸の味が味覚感覚に大きく影響を及ぼして

Table 3 Rank sums and rank sums differences in ranking test of samples – evaluation by elderly people –

Sample ^{a)}	All (14)		
	Sour	After taste	Total
(A)	36	29	35
(B)	28	30	31
(C)	20	25	18
(A)-(B)	8	1	4
(A)-(C)	16**	4	17**
(B)-(C)	8	5	13*

^{a)} Samples : (A) Saccharified solution, (B) Lactic acid fermented saccharified solution, (C) Lactic acid fermented saccharified solution including 3% erythritol.

Significant differences: * P<0.05, ** P<0.01

いると思われる。

(4)高齢者の評価

学生と同様に60~70歳代の高齢者についても官能検査を行い、順位法で評価した結果を Table 3 に示した。官能検査のパネル数が少ない点に多少問題はあるが、いずれの評価項目においても (A), (B) 間に有意差は認められず、また、後味については3種のサンプル間に有意差は認められなかった。総合評価において (B), (C) 間に有意差が認められたことから、発酵させたものには、甘味の補強がある程度必要であることがうかがえる。

各サンプルの総合的な味の好みについて、ヘドニックスケールを用いて評価したのが、Fig.3 (B) である。各サンプルの評価の平均値は糖化液で+0.86、発酵糖化液が+0.92、発酵糖化液に3%エリスリトールを添加したものが+1.50であった。糖化液のような味に対して予想以上に抵抗感はなく、発酵糖化液と平均値ではほぼ同等の評価が得られた。発酵糖化液は、+1および+2にピークは認められるが-2~+3までかなりの幅があり、嗜好にバラツキがみられた。発酵液にエリスリトールを添加すると約6割のパネルが+2と評価しており、好みがほぼ一致し、酸味、甘味のバランスが嗜好性に大きく影響していると考えられる。各サンプルの味を形容語で表現してもらったのが、Fig.4 (B) である。糖化液では、砂糖水のような味と評価したパネルが7割程度と味の感じ方は一致しており、発酵させることでレモンのような風味となり、そこにエリスリトールを添加するとリンゴのような感じを受けるパネルが増えていた。

(5) 学生と高齢者の嗜好性の比較検討

順位法において、学生の場合、糖化液と発酵糖化液の(A)、(B)間や(A)、(C)間に有意差が認められるのに対して、高齢者の場合は、(A)、(B)間にはいずれの評価項目に対しても有意差はなく、(A)、(C)間および(B)、(C)間の方が嗜好差が大きくなっている(Table 2, 3)。従って、学生では発酵の有無が、高齢者においては甘味の強弱が嗜好性の評価に影響していると考えられる。このことは、各サンプルの味の好みを評価したヘドニックスケールの結果に表れている(Fig.3)。高齢者の評価は学生よりも全体的に高くなっており、特に糖化液のサンプルにおいては学生との間に+2ポイント程度の開きがある。糖化液を砂糖水のように感じているのは両パネルともに7割と一致しており、高齢者は砂糖水のような甘い味に対する受容度が高いと考えられる(Fig.4)。しかし、糖化液に対して学生の約6割が米のような感じを受けているのに対して、同様な味を感じた高齢者パネルは1名のみで、糖化液自体の味が学生と比較して薄く感じられ、程よい甘味だけのように感じられている可能性がある。また、加齢とともに味覚閾値は高くなる傾向にあり、若年者が酸味を好むのに対して、高齢者は味覚が変化し、甘味、塩味を好むようになるといわれている¹²⁻¹⁴⁾。従って、高齢者の評価値が全体的に高いのは、味に対する受容度が高く、学生とは味の強度が異なったように考えられる。また、学生と比較し、比較的強い甘味も好ましいと感じる可能性などが考えられる。発酵糖化液ではレモン風味を感じ、3%エリスリトールを添加することでリンゴ風味を感じる割合が増加する傾向は学生と高齢者で一致しているが、学生はその他にお酢のような感じを挙げるパネルが5割程度存在していた。サンプルの含有有機酸には揮発性の酢酸も若干含まれており、そのためお酢のように感じられたのではないかとと思われるが、そのような揮発性の酸味に対しては、高齢者は学生よりも感受性は低くなっていると考えられる。高齢者の中にはどのサンプルも似たような味であったとする一方で、酸味を強く感じたパネルも存在していた。高齢者パネル間には個人差がかなりあると思われるので、パネル数を増やして検討する必要があるが、それは今後の課題である。

学生、高齢者ともに、発酵糖化液に3%エリスリトールを添加したサンプルの嗜好性が最も高く、酸味が強く感じられるような場合には、甘味料の添加で嗜好性はかなり改善されると思われる。エリスリトールは甘味度はショ糖の70~30%であるが、低エネルギー、非う蝕性であり、経時的な酸味増加の防止にヨーグルトなどに使用されている¹⁵⁾。発酵糖化液の甘味料として

利用していくには適当なものの一つではないかと思われる。

4. 結 語

ケフィアからの単離乳酸菌を使用して調製した米粉糖化乳酸発酵液の飲料としての利用について、学生および高齢者との嗜好性の差を含めながら検討した。得られた結果は以下の通りである。

- 1) 乳酸発酵液の飲料としての調製条件を検討した結果、グルコアミラーゼA処理糖化液とグルクザイム処理糖化液の混合比率が9:1程度のものが適当であった。米粉糖化発酵液中には、乳酸をはじめとし、酢酸、クエン酸、リンゴ酸などが含まれていた。
- 2) 乳酸発酵糖化液の嗜好性を評価した結果、発酵糖化液に3%のエリスリトールを添加したもののサンプルが、学生、高齢者ともに評価が高かった。
- 3) 学生は糖化液よりも発酵液の方を有意に好む傾向が認められた。高齢者の場合は3種のサンプルいずれも学生より評価が高く、特に糖化液においては学生との間に2ポイント程度の開きがあったが、サンプル間の嗜好差はそれほど大きくなかった。
- 4) 学生の約5~6割が糖化液に米のような感じ、発酵液にお酢のような感じを受けたのに対して、高齢者で同様な味の感じを受けたパネルは1名のみで、味覚閾値の上昇など、高齢者と学生では味の感じ方が異なっている可能性が高いと考えられた。

本実験では上新粉を用いたが、予備的な実験では外米を用いても比較的良好的な発酵液が調製でき、古米や外米の利用法の一つとして応用できる可能性があると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、有機酸分析においては日本分光(株)のご助力をいただきました。官能検査実施においては東広島社会福祉協議会事務局河内昌彦氏、腰本修氏のご尽力をいただき、東広島熱年大学受講生、広島大学学生有志のご協力をいただきました。また、糖化用酵素を天野製薬(株)よりご恵みいただき、(財)飯島記念食品科学振興財団から平成8年度学術研究助成金のご援助をいただきました。ここに深く感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 斎尾恭子：澱粉科学, 40, 155-161 (1993).
- 2) 河野友美：食の科学選書3「食文化と嗜好」, 光琳, 東京, pp.171-172 (1991).
- 3) Tominaga, M. and Sato, K.: *J. Food Sci.*, 61, 627 - 631 (1996).
- 4) 古川秀子：「おいしさを測る」食品官能検査の実際, 幸書房, 東京, pp.24-29, 132-133 (1994).
- 5) 平林輝美, 佐藤一精：家政誌, 38, 817-821 (1987).
- 6) 富永美穂子, 佐藤一精：家政誌, 48, 1029-1033 (1997).
- 7) Vedamuthu, E.R.: *J. Dairy Sci.*, 77, 2725 - 2737 (1994).
- 8) Garvie, E.I.: In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.2, Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (Ed.), Williams & Wilkins, Baltimore, pp.1071 - 1075 (1986).
- 9) Holzapfel, W.H. and Schillinger, U.: In *The Prokaryotes*, second edition, Vol.2, Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H. (Ed.), Springer - Verlag, New York, pp.1508 - 1534 (1992).
- 10) Lee, C.H., Min, K.C., Souane, M., Chung, M.J., Mathiasen, T.E. and Adler - Nissen, J.: *Food Biotechnol.*, 6, 239 - 255 (1992).
- 11) 田口田鶴子, 岡本洋子：家政誌, 44, 115-121 (1993).
- 12) 田口田鶴子, 岡本洋子：家政誌, 41, 509-516 (1990).
- 13) 佐藤昌康：「味覚の生理学」, 朝倉書店, 東京, pp.40-47 (1991).
- 14) 丸井隆之：「調理とおいしさの科学」, 島田淳子, 下村道子編, 朝倉書店, 東京, pp.149-151 (1993).
- 15) 田中潔：「新食品開発用素材便覧」, 吉積智司, 伊藤汎, 太田明一, 田村力編, 光琳, 東京, pp.278-283 (1991).