

糠床の発酵過程の微生物叢変化と化学成分に関する研究

小野, 浩

<https://hdl.handle.net/2324/1470634>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 小野 浩

論文題目 : 糠床の発酵過程の微生物叢変化と化学成分に関する研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

糠漬けは日本で古くから食されている漬物である。その漬床である糠床は、米糠、塩を原料とし、野菜を漬け込むことで乳酸発酵が進み、糠床中には微生物が多数存在することが知られている。糠床の製造法は、現在でもほとんど工業化されておらず、主に自然発酵により製造されている。これまでに、培養法を用いた自然発酵糠床の菌叢変化解析が行われており、*Pediococcus pentosaceus*、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus brevis* の存在が報告されている。近年、次世代シーケンサーを利用したピロタグ法による超長期熟成糠床の菌叢解析が行われ、*Lactobacillus acetotolerans*、*Lactobacillus namurensis* が優勢菌として報告されている。本研究では、自然発酵糠床の発酵過程の微生物叢変化を、分子生物学的手法であるピロタグ法を用いて解析し、糠床の発酵に関与する細菌について詳細に説明することを目的に研究を進めた。

まず、産地、品種の異なる 4 種類の米糠を用いて糠床を作成し、24℃で 60 日間発酵させ、糠床菌叢の違いを比較した。その結果、発酵初期は米糠の違いにより菌叢が異なり、*Enterococcus faecalis*、*P. pentosaceus*、*Lactobacillus curvatus*、*Weissella paramesenteroides* 等の主に乳酸球菌が検出された。これらの発酵初期菌叢の違いに関わらず、発酵が進むと全ての糠床で *L. plantarum* が増加し、優占種または準優占種となることが分かった。

次に、香辛料、発酵温度、塩分濃度が糠床菌叢へ与える影響を解析した。まず、山椒、唐辛子添加糠床と香辛料無添加糠床を 24℃で 60 日間発酵させた結果、山椒、唐辛子添加糠床において pH 低下、乳酸産生が早く起こった。菌叢の違いを比較すると、山椒、唐辛子添加糠床では *Staphylococcus saprophyticus* の生育が抑制され、*P. pentosaceus* の生育が促進された。この結果から、山椒、唐辛子は菌叢変化を通して、糠床の乳酸発酵を促進する働きがあることが分かった。次に、発酵温度が糠床菌叢へ与える影響について解析するため、糠床を 10℃、24℃、30℃、37℃で 60 日間発酵させた。その結果、発酵温度が 10℃では *S. saprophyticus*、*Lactobacillus sakei*、24℃では *S. saprophyticus*、*Enterococcus mundtii*、*L. sakei*、*Leuconostoc citreum*、*L. plantarum*、32℃では、*S. saprophyticus*、*W. paramesenteroides*、*E. mundtii*、*L. plantarum*、37℃では *Staphylococcus epidermidis*、*E. mundtii*、*W. paramesenteroides*、*L. plantarum*、*Lactobacillus vaginalis* がそれぞれ検出され、発酵温度の違いにより糠床菌叢が変化することが分かった。更に、糠床の塩分濃度が糠床菌叢へ与える影響について解析するため、塩分濃度を 3%、5%、7%、10%に調整した糠床を、24℃で 60 日間発酵させた。その結果、塩分 3%では、*E. mundtii*、*Lactococcus lactis*、*P. pentosaceus*、*Lactobacillus acidifarinae*、*L. plantarum* といった多様な乳酸菌が検出されたのに対して、塩分 5%では *S. saprophyticus* が優勢となった後に、*L. acidifarinae* が優勢となり、60 日目に *L. plantarum* が検出された。塩分 7%以上になると、糠床中で主に検出される細菌は、発酵初期の *Pantoea* 属細菌を除いて、*S. saprophyticus* と *L. acidifarinae* のみとなった。多様性指数を比較すると、糠床の塩分濃度が高くなると多様性指数が小さくなり、塩分濃度が高くなると糠床の種多様性が低くなることが分かった。

最後に、糠床から分離した乳酸菌、酵母がモデル糠床中で産生する香気成分を GC/MS を使用し

て解析した結果、乳酸菌と酵母はそれぞれ別々の香気成分を産生していることが分かった。また、乳酸菌と酵母を共培養すると、乳酸菌、酵母単独では産生されないイソ酪酸、イソ吉草酸を検出したことから、糠床の複雑な香気成分は乳酸菌と酵母の相互作用により産生されている可能性が示された。

以上、本研究により、これまで不明な部分が多かった、糠床の発酵過程における微生物叢変化の詳細と、発酵条件や添加物の微生物叢に与える影響、そしてそれらの微生物叢が醸し出す糠床の複雑な香気成分に関する情報が得られた。これらは、今後の展開が見込まれる、糠床発酵の微生物制御において重要な知見なると期待される。