

|               |  |
|---------------|--|
|               | アサヌマ コウイチ  |
| <b>氏 名</b>    | <b>浅沼 宏一</b>   |
| 本籍（国籍）        | 岩手県  |
| 学位の種類         | 博士（農学）   |
| 学位記番号         | 連論第192号  |
| 学位授与年月日       | 令和6年9月25日  |
| 学位授与の要件       | 学位規則第5条第2項該当論文博士   |
| <b>学位論文題目</b> | <b>地域素材を活用した発酵調味料開発のための評価方法の確立と醸造過程における微生物叢の解析</b><br><b>（ Establishment of evaluation methods for the development of fermented seasonings using local ingredients and analysis of microflora in the brewing process ）</b> |
| 学位審査委員        | 主査 岩手大学教授 山下 哲郎<br>副査 岩手大学教授 袁 春紅<br>副査 山形大学教授 小関 卓也<br>副査 弘前大学准教授 前多 隼人   |

## 論文の内容の要旨

この論文では、地域素材を活用した発酵調味料を開発することにより、地域に根差した個性的な醤油産業の振興に貢献するため、詳細な化学成分の比較解析と醸造過程における微生物叢の解析を通じて、製品の特性や品質に影響を与える要因を明らかにした。

第一章では、岩手県の地域資源である雑穀を活用して醤油風調味料を製造し、通常の醤油と比較することで、異なる原料が製品の特性に与える影響を明らかにした。原料は、主要なアレルゲン食品として記載が義務付けられていないものや高レベルのアミノ酸を示す豆類など、多様な特性を持つものを選択した。具体的には、押麦、発芽玄米、赤たかきび、アマランサス、もちきび、ひえ、米ぬか、ひよこ豆、菜種搾りかす、エゴマ搾りかすの10種類の原料と通常醤油の原料から醸造した調味料の物理化学組成、遊離アミノ酸レベル、GC-MSによる香气成分の分析、色度計による色の分析、QDA法による官能評価などの包括的な分析を通じて、各製品の特性を明らかにした。

各製品の成分分析の結果、タンパク質含量の高い原料は、発酵後の調味料中の遊離アミノ酸濃度が高くなることがわかった。嗜好属性アミノ酸量のトップ3は、醤油、菜種搾りかす、エゴマ搾りかすであった。揮発性の成分については、発芽玄米と押麦を除き、各原料がそれぞれ特徴的な香气成分を有していた。官能評価では、発芽玄米とひえを発酵させた調味料は同じグループに分類され、それ以外は別のグループとなった。味覚アミノ酸、香り、官能評価の関係をPLSR(Partial Least Squares Regression)で分析した結果、通常の醤油は

甘味とうま味が主な特徴であった。対照的に、菜種搾りかすから発酵させた調味料は苦味が主であった。通常の醤油の香りは主に穀物臭や紅茶臭であったのに対し、菜種はダシ臭や香ばしい香りが特徴的であった。

第二章では、魚醤の発酵過程における微生物相を理解し、製品の品質と安全性を管理することを目的とし、近年三陸で豊富に漁獲されているイワシを原料として使用し、醤油麴を加えたものと醤油麴を加えない魚醤を製造し、醗酵過程での微生物の菌叢を調査した。調査手法として次世代シーケンサーを用いた遺伝学的手法を採用し微生物叢の解析においては、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を対象としたアンプリコン解析を行い、微生物の多様性を評価した。試験区は①イワシを常温で保管したもの。②イワシを 30℃に保管したもの。③イワシに麴を加えたものを常温で保管したもの。④イワシに麴を加え、30℃に保管したもの。⑤イワシをミンチにして麴を加え、30℃に保管したもの。の 5 種類とした。微生物集団はこの初期段階で劇的に変化するため、仕込んでから 3 週間経過したもろ味をサンプルとして採取した。

その結果、醤油麴を加えたものと加えないものとの違いが見られ、醤油麴を加えた場合、乳酸菌の増加により醗酵初期の微生物の多様性が減少する傾向が示唆された。この現象は、醤油麴由来のグルコースが乳酸発酵の基質として供給されたことによるものと考えられた。有機酸の蓄積による pH の低下によって、耐塩性乳酸菌の優占が促進され、微生物の多様性が減少し、醤油製造の効率性や製品の安全性向上につながる可能性が示された。

本研究を通して、醤油の風味や品質は原料の特性によって発酵する微生物の菌叢が変わり、最終製品の特性が変わることが明らかとなった。雑穀類を材料とした発酵調味料および魚醤の醸造において、*Tetragenococcus halophilus*、*Zygosaccharomyces rouxii*、*Candida versatilis* などの醤油醸造に活用されている風味生成微生物の添加や、もろ味中の組成調整、発酵温度や時間など製造過程の環境によっても結果が変わってくるため、今後の研究により、各原材料に最適な製造プロセスを確立することが課題として明らかになった。

また、官能評価として、定量的記述分析法 (QDA 法) を用いたが、パネルのトレーニングと事前の言葉だしに人的、時間的コストがかかった。これらの課題を解決するために一般人をパネルとした CATA 法 (Check-All-That-Apply) を用いることで負担を軽減することができる。CATA 法を用いるために最適な用語の選定として、先行研究によるライブラリを活用し、文献情報による各化合物の特徴を言語表現をしたものを参考にしながら用語を選定することが望ましいと考えられる。本研究の製品評価プロセスを活用することにより、地域資源を活かした特徴的な商品の開発と安全性の向上の両立を加速することが期待できる。

## 論文審査の結果の要旨

この論文では、地域素材を活用した発酵調味料を開発することにより、地域に根差した醤油産業の振興に貢献するため、化学成分の詳細な比較解析や醸造過程における微生物叢の解析を通じて、製品の特性や品質に影響を与える要因を明らかにした。

第一章では、岩手県の地域資源である雑穀を活用して醤油風発酵調味料を製造し、通常の醤油と比較することで、異なる原料が製品の特性に与える影響を明らかにした。押麦、発芽玄米、赤たかきび、アマランサス、もちきび、ひえ、米ぬか、ひよこ豆、菜種搾りかす、エゴマ搾りかすの 10 種類の原料と通常醤油の原料から同じ条件で醸造した発酵調味料の物理化学組成、遊離アミノ酸レベル、GC-MS による香気成分の分析、色度計による色の分析、質的データ分析法 (QDA 法) による官能評価などの包括的な分析を通じて、各製品の風味の特徴とそれと関連付けられる化学成分の同定を行った。

第二章では、魚醤の発酵過程における微生物相を理解し、製品の品質と安全性を管理することを目的とし、近年三陸で豊富に漁獲されているイワシを原料として使用し、醤油麴を加えたものと醤油麴を加えない魚醤を製造し、醗酵過程での微生物の菌叢を調査した。調査手法として次世代シーケンサーを用いた遺伝学的手法を採用し、微生物叢の解析においては 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を対象としたアンプリコン解析を行い、微生物の多様性を評価した。試験区は①イワシを常温で保管したもの。②イワシを 30°C に保管したもの。③イワシに麴を加えたものを常温で保管したもの。④イワシに麴を加え、30°C に保管したもの。⑤イワシをミンチにして麴を加え、30°C に保管したものの 5 種類とした。仕込んでから 3 週間経過したもろ味をサンプルとして採取したところ、醤油麴を加えたものと加えないものとの多様性に大きな違いが見られ、醤油麴を加えた場合、乳酸菌の増加により醗酵初期の微生物の多様性が減少する傾向が示唆された。この現象は、醤油麴由来のグルコースが乳酸発酵の基質として供給されたことによるものと考えられ、有機酸の蓄積による pH の低下によって、耐塩性乳酸菌の優占が促進され、微生物の多様性が減少し、魚醤製造の効率性や製品の安全性向上につながる可能性が示された。

本研究の成果である製品評価プロセスを活用することにより、地域資源を活かした特徴的な商品の開発と安全性の向上を加速することが期待できる。本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士 (農学) の学位を与えるのに十分な資格を有するものと判定した。

学位論文の基礎となる学術論文

Development and characterization of Japanese soy sauce-like fermented seasoning with various ingredients

Koichi Asanuma, Zhuolin Wang, Tamako Miyazaki, Chunghong Yuan, Tetsuro Yamashita

*Food Bioscience* **59**, (2024) 104198