

## C113

## プーアル茶発酵過程における有機物変化と微生物の役割

(静岡大) (正) 安部道玄・(東工大院)(正) 中崎清彦\*

## 1. 目的

プーアル茶は茶葉に含まれる酵素の作用を利用して製造される紅茶や烏龍茶とは異なり、微生物の作用によって発酵される茶である。本研究では、プーアル茶発酵過程における茶葉の有機物変化と、発酵過程に出現する特徴的な微生物の特性を解析することでプーアル茶の製造に関わる微生物の役割を明らかにすることを目的とした。

## 2. 実験方法

プーアル茶は次の手順で製造される。茶葉を加熱処理し、酵素を失活させた後、揉みほぐす。その後発酵室内に高さ約1mのうね状に積み上げ、水分を加えて約50日間発酵させる。本研究では、発酵過程における堆積層の温度変化を測定した。また、発酵過程で適宜サンプルを採取し、pH、含水率、カテキン類および没食子酸含有量を測定した。さらに茶葉サンプル中の細菌および真菌濃度を定量するとともに微生物叢の解析をおこない、発酵過程で出現する特徴的な微生物の濃度について Real-time PCR 法により定量した。

カテキン類および没食子酸は茶葉を熱湯中で抽出し、得られた抽出液について HPLC を用いて測定した。また、微生物濃度の測定には希釈平板法を用いた。微生物叢の解析には PCR-DGGE 法を用い、細菌については 16S rRNA 遺伝子領域を、真菌については 26S rRNA 遺伝子領域を PCR で増幅し、変性剤の濃度勾配をもつゲルを用いて電気泳動 (DGGE) をおこなった。

## 3. 結果と考察

## 3.1 発酵過程におけるプーアル茶の成分変化

温度は発酵全体を通じて約 30 から 60 で推移した。発酵期間を通じて含水率は 30% から 40%、pH は 4 から 5 の酸性条件に維持された。これらのことより、弱酸性・低含水率であったことから真菌にとってより好ましい環境であったと考えられた。

また、ここには詳細を示さないが、カテキン類および没食子酸含有量は、ECG と EGCG が発酵 1 日後、および 10 日前後で大幅に減少したのに対応して EC、EGC および GA (没食子酸) は一旦増加するが、その後減少する傾向が見られた。これは発酵初期に ECG が分解され EC と GA が、EGCG が分解され EGC と GA が生成されたためと考えられた。

## 3.2 発酵過程における菌体濃度及び微生物叢変化

Fig. 1 に真菌、および細菌の菌体濃度の経時変化を示す。細菌濃度は発酵過程を通じて  $10^6 \sim 10^8$  CFU/g-ds

の値に保たれた。一方、真菌濃度は発酵 1 日後に  $10^9$  CFU/g-ds まで急激に増加し、発酵終了時には細菌濃度とほぼ同様の濃度にまで低下するものの、それ以前の発酵過程全般で細菌濃度よりも高濃度に維持された。これらのことより、発酵期間を通して真菌が優勢に存在していたことがわかった。

なお、ここには詳細を示さないが、PCR-DGGE 解析をおこなったところ、真菌では 2 つの特徴的なバンドが、細菌でも、発酵過程で特徴的に出現する複数のバンドが観察された。

Fig. 2 に発酵過程で特徴的に出現するカビ (MPT1)、酵母 (YPT1)、細菌 (BPT2) に対する菌体濃度の経時変化を示す。MPT1 は発酵前半にのみ高濃度に存在し、発酵が進むにともなって濃度が低下した。一方、YPT1 および BPT2 は発酵終了まで高濃度に維持されていた。ここには詳細を示さないが、MPT1、YPT1 はカテキン類分解活性を有することが確かめられており、プーアル茶発酵過程前半では MPT1 が、後半では YPT1 がカテキン類の分解に対して主要な役割を担っていたことが考えられた。

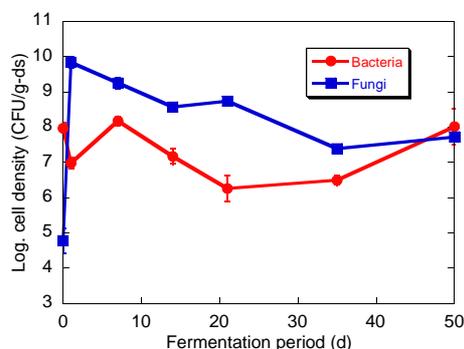


Fig. 1 発酵過程における微生物の濃度変化 (n=3)

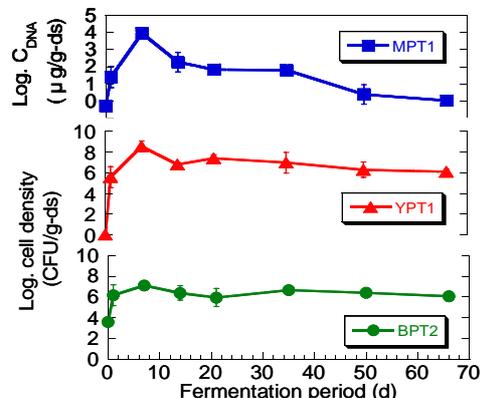


Fig. 2 発酵過程における単離微生物の濃度変化 (n=3)

\* TEL/Fax : 03 - 5734 - 3169

E-mail : nakasaki@ide.titech.ac.jp