

後発酵茶の菌叢解析と 上々流乳酸菌発酵茶の創製

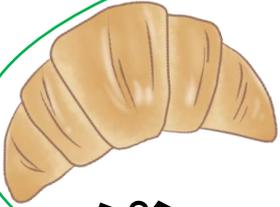
チーム
岐阜のマチュピチュ 天空の茶畑



上々流乳酸菌発酵茶

の創製を目指します

発酵食品



パン



後発酵茶



なれ寿司



うるか



す



ヨーグルト



シュールストレミング



ホノヘ



チーズ



納豆

多望の春
岐山 きざん



岐阜大学の学生が、郡上市の自然環境から独自に採取した清酒酵母（岐阜大酵母GY115-a3株）を使用しています。白ワインのような甘酸っぱさとはのかな甘さを感じる純米酒に仕上げました。

多望の春
曲阜 きょくふ



酵母は、岐阜大酵母GY115-a3株と岐阜県産業技術センターが開発した岐阜県酵母Ce-41株を接合させた酵母GY115-a3×Ce-41株を使用。2つの酵母の長所を掛け合わせた淡麗でスッキリとした辛口の純米酒です。



キムチ

お茶の分類

生葉

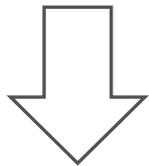


不発酵茶

半発酵茶

発酵茶

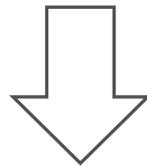
後発酵茶



緑茶



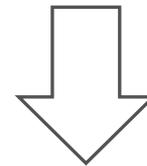
<https://www.flickr.com/photos/kankar/83154603>



烏龍茶



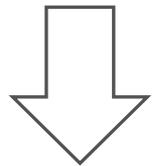
<https://www.flickr.com>



紅茶



<https://www.flickr.com/photos/27983255@N00/4059720257>



黒茶



<https://setouchifinder.com/ja/detail/521>

世界の後発酵茶



実験方法



石鎚黒茶の製造方法

石鎚黒茶の製造過程



収穫・洗浄



蒸す



枝取り



一次発酵



揉み



二次発酵



乾燥



完成

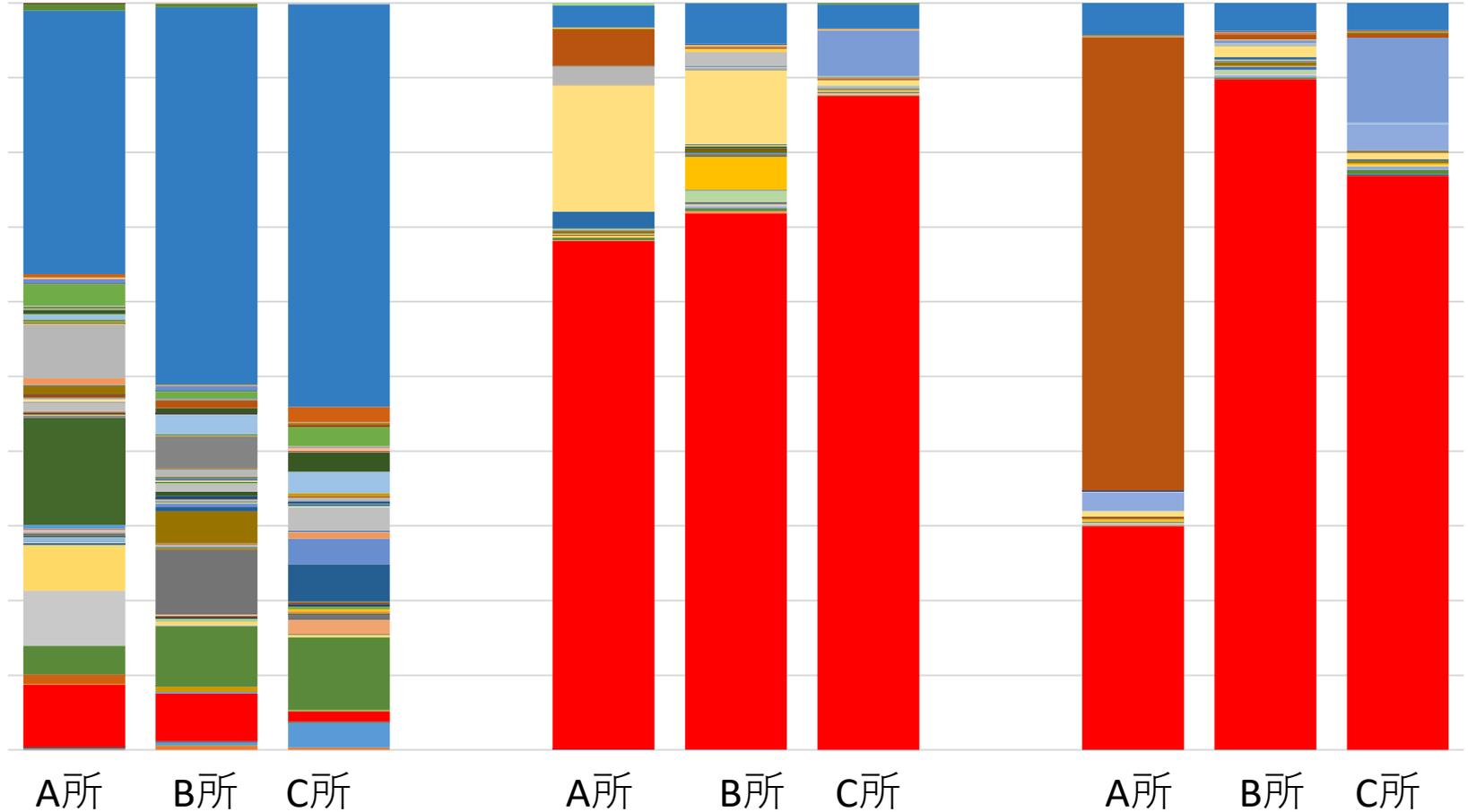


発酵過程における真核微生物の菌叢解析(ITS)

発酵前

1次発酵 (石鎚山)

2次発酵 (麓)



- *Alternaria*
- *Colletotrichum*
- *Dothideomycetes*
- *Phyllachoraceae*
- *uncultured*

- *Aspergillus*
- *Cutaneotrichosporon*
- *Elsinoe*
- *Pichia*

- *Camellia*
- *Debaryomyces*
- *Mucor*
- *Rhizopus*

- *Ceramothyrium*
- *Dothioraceae*
- *Pestalotiopsis*
- *Saccharomycetales*

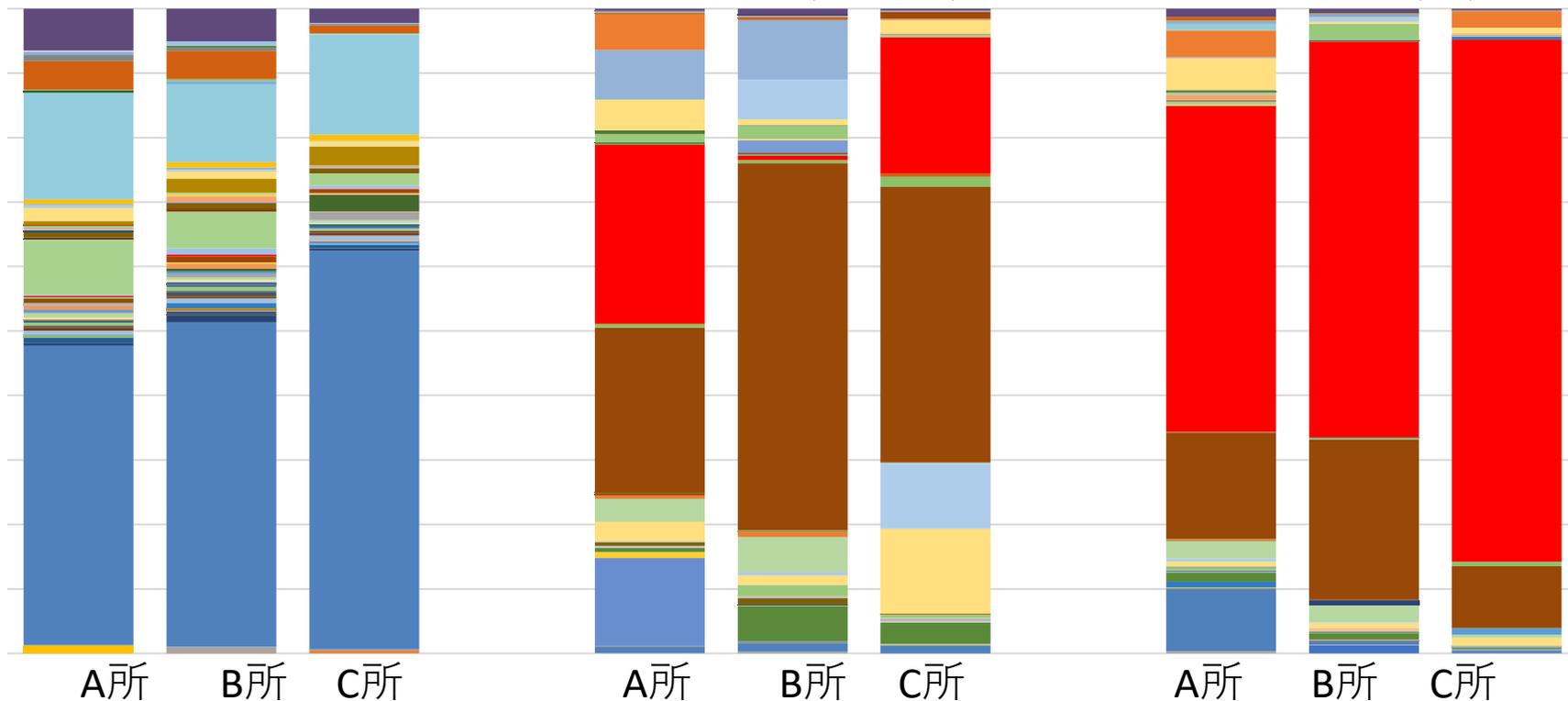
***Aspergillus* 属が、1次発酵後に優先**

発酵過程における原核微生物の菌叢解析(16S、V3-V4)

発酵前

1次発酵 (石鎚山)

2次発酵 (麓)



- *Acetobacter*
- *Aerosakkonema*
- *Bacillus*
- *Burkholderia*
- *Enterobacter*
- *Enterococcus*
- *Erwinia*
- *Gluconacetobacter*
- *Herbaspirillum*
- *Klebsiella*
- ***Lactiobacillus***
- *Methylobacterium*

***Lactobacillus* 属が、2次発酵で優先**

***Lactobacillus(Lactiplantibacillus)palntarum* が分離**

阿波晩茶の製造工程

①摘菜
(茶葉の収穫)



②殺青
(茹でる)



③揉捻
(揉む)



④漬込み
(嫌気発酵)



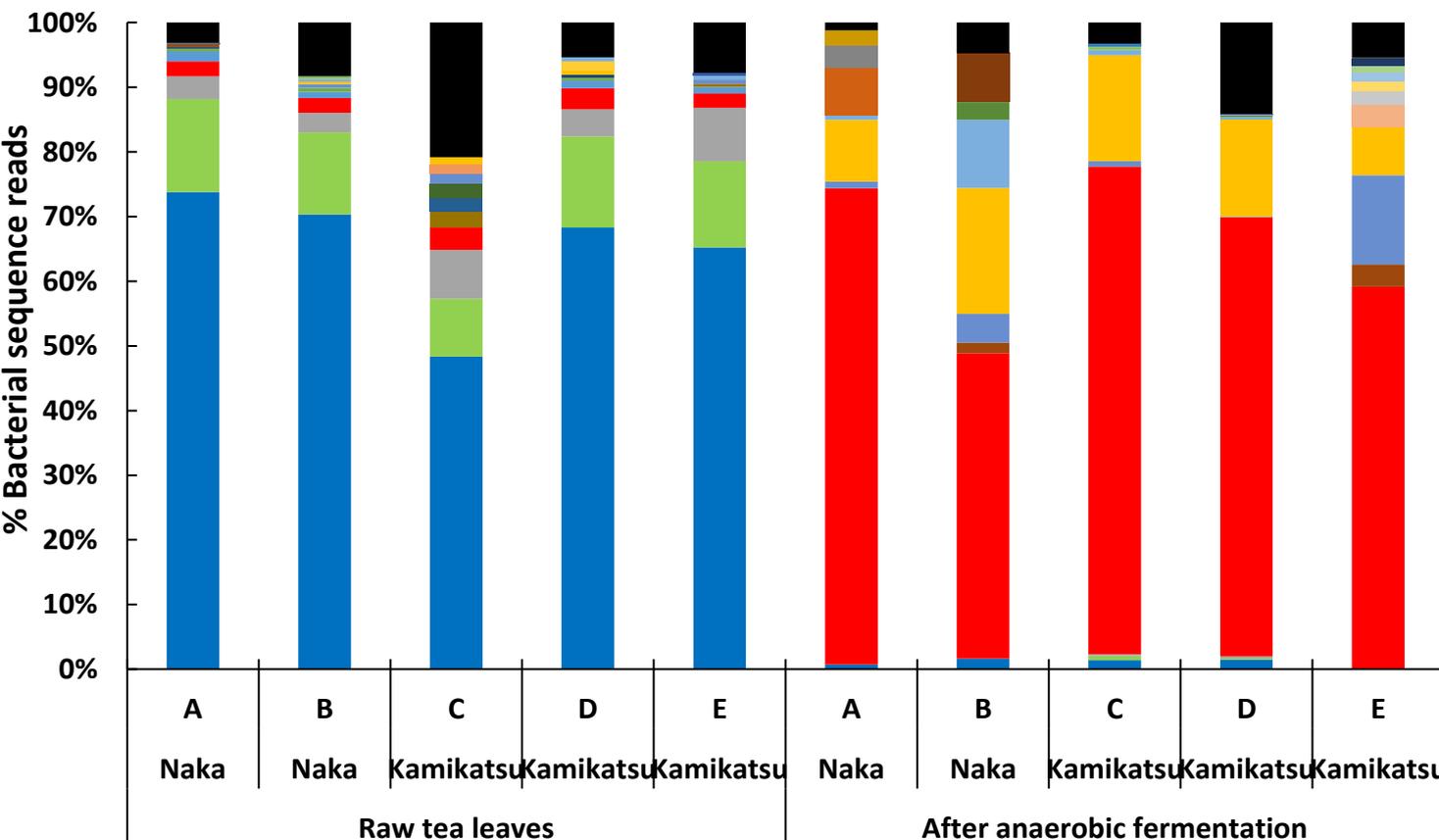
⑤天日乾燥



約 1 週間

発酵過程における原核微生物の菌叢解析(16S、V3-V4)

- *Aerosakkonema*
- *Rhodoligotrophos*
- *Methylobacterium*
- *Lactobacillus*
- *Sphingomonas*
- *Cephalothrix*
- *Foliisarcina*
- *Leuconostoc*
- *Chroococidiopsis*
- *Pseudogulbenkiania*
- *Novosphingobium*
- *Duganella*
- *Pseudomonas*
- *Flavobacterium*
- *Klebsiella*
- *Aureimonas*
- *Enterobacter*
- *Spirosoma*
- *Geodermatophilus*
- *Pseudocitrobacter*
- *Cronobacter*
- *Weissella*
- *Enterococcus*
- *Pantoea*
- *Cephalothrix*
- *Acetobacter*
- *Arcobacter*
- *Gordonibacter*
- *Acinetobacter*



***Lactobacillus* 属が、発酵で優先**

***Lactobacillus (Lactiplantibacillus) pentosus* が分離**

阿波晩茶分離乳酸菌の 種の特定

1: *L.plantarum* subsp. *plantarum* JCM1149^T

2: *L.pentosus* JCM1558^T

3: *L. paraplantarum* JCM12533^T

4: B1810

5: B1811

6: B1812

7: B1813

8: B1814

9: B1815

10: B1816

11: B1817

12: B1818

13: B1819

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



分離した乳酸菌は
L. pentosus が優先

何故優占種になるのか

L. plantarum ? *L. pentosus* ?



GENOME SEQUENCES



Draft Genome Sequence of *Lactobacillus plantarum* IYO1511,
Isolated from Ishizuchi-Kurocha

Ryo Niwa,^a Yolani Syaputri,^b Masanori Horie,^{b,c} Hitoshi Iwahashi^{a,b}

L. plantarum

L. pentosus
修正中

^aFaculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, Gifu, Japan

^bThe United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University, Gifu, Japan

^cHealth Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Takamatsu, Kagawa, Japan

おそらく同種？

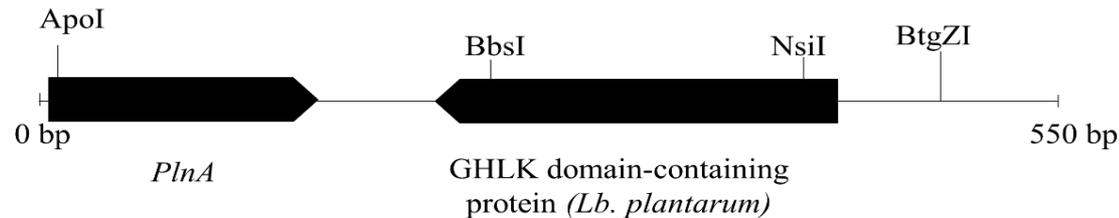
両ストレインはバクテリオシン
様遺伝子を持っている

バクテリオシン

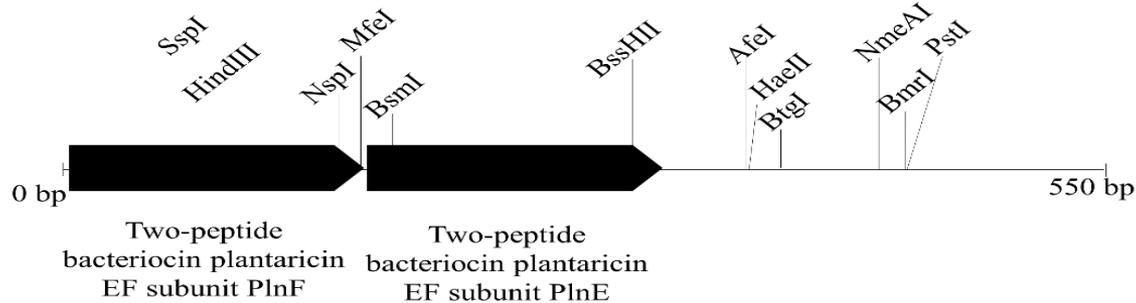
バクテリオシン: バクテリアが産生する、同種や類縁種に対する**抗菌活性をもったタンパク質やペプチド**の総称

Lactiplantibacillus plantarum 10Y1511株

plnA



plnEF



バクテリオシンが発酵に関与している？
(生態系における微生物の挙動)

かみがれちや 茶流ヶ上りの里の産茶



安政4年（1857年）京都より苗木を賜り、旧春日村上ヶ流地区（現在揖斐川町）で、**農薬未使用、安心安全な100%国産上ヶ流茶を生産**



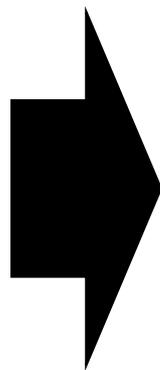
<http://kamigare.net/>

かみがれちゃ 天竺の里上ヶ流茶

一番茶二番茶の生産が主で、番茶は安価か廃棄



そこで



上ヶ流乳酸菌発酵茶

乳酸菌の分離

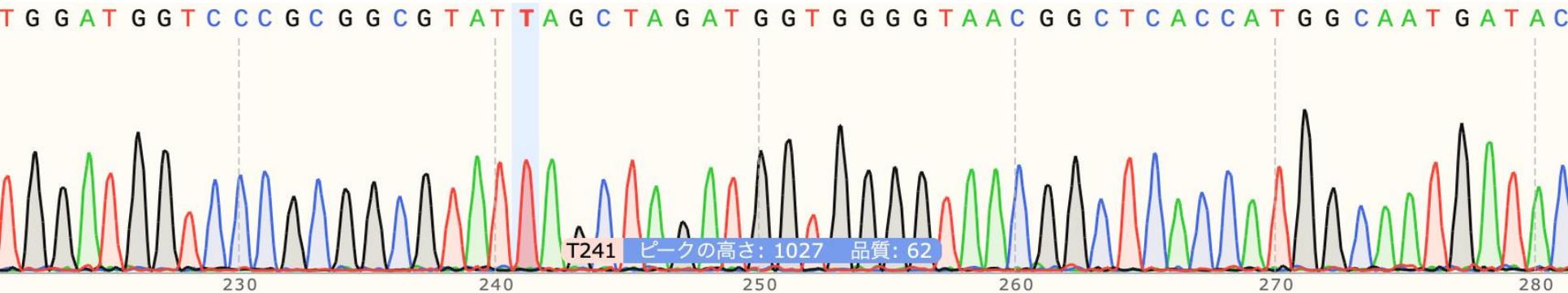
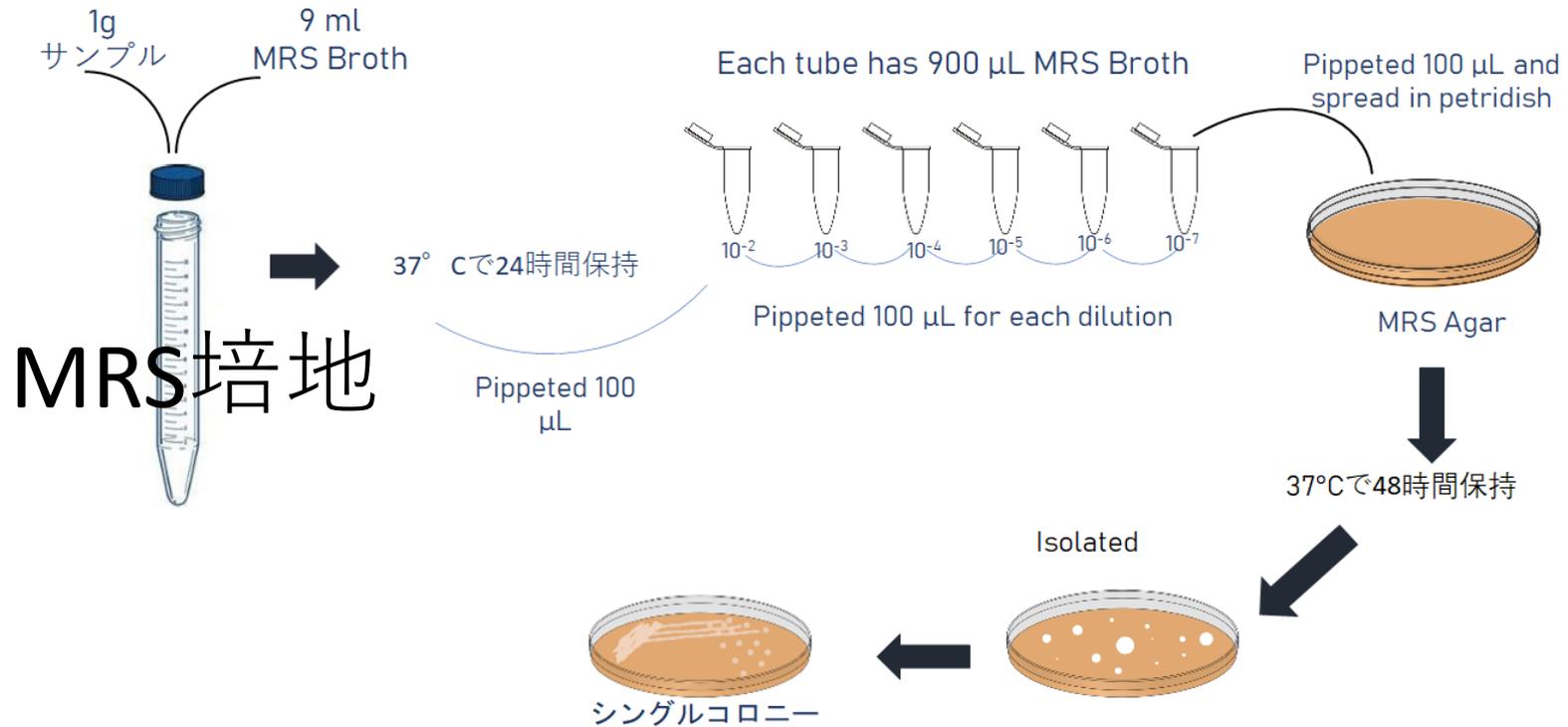
○上ヶ流地区で分離

○*L. plantarum*

○バクテリオシン
(**フランタリシン**)



乳酸菌の分離



L. plantarum

プランタリシン遺伝子の確認

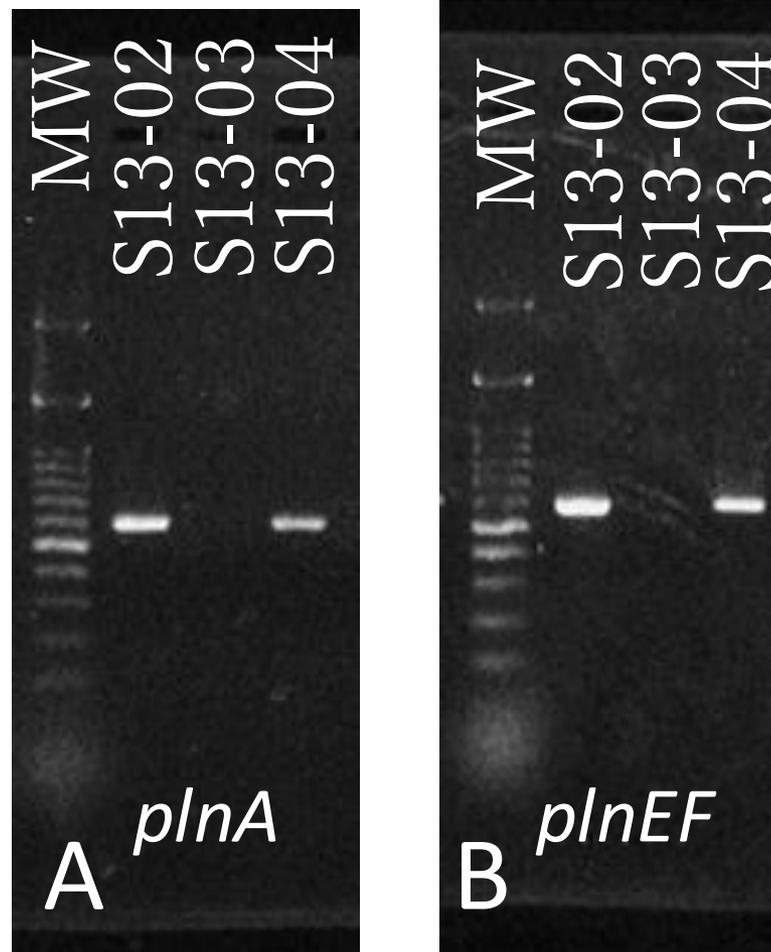


図 1 PCRによるプランタリシン遺伝子の確認
A : *plnA* , B : *plnEF*, MW: 分子量マーカー

上々流
乳酸菌
発酵茶

作法
の



番茶

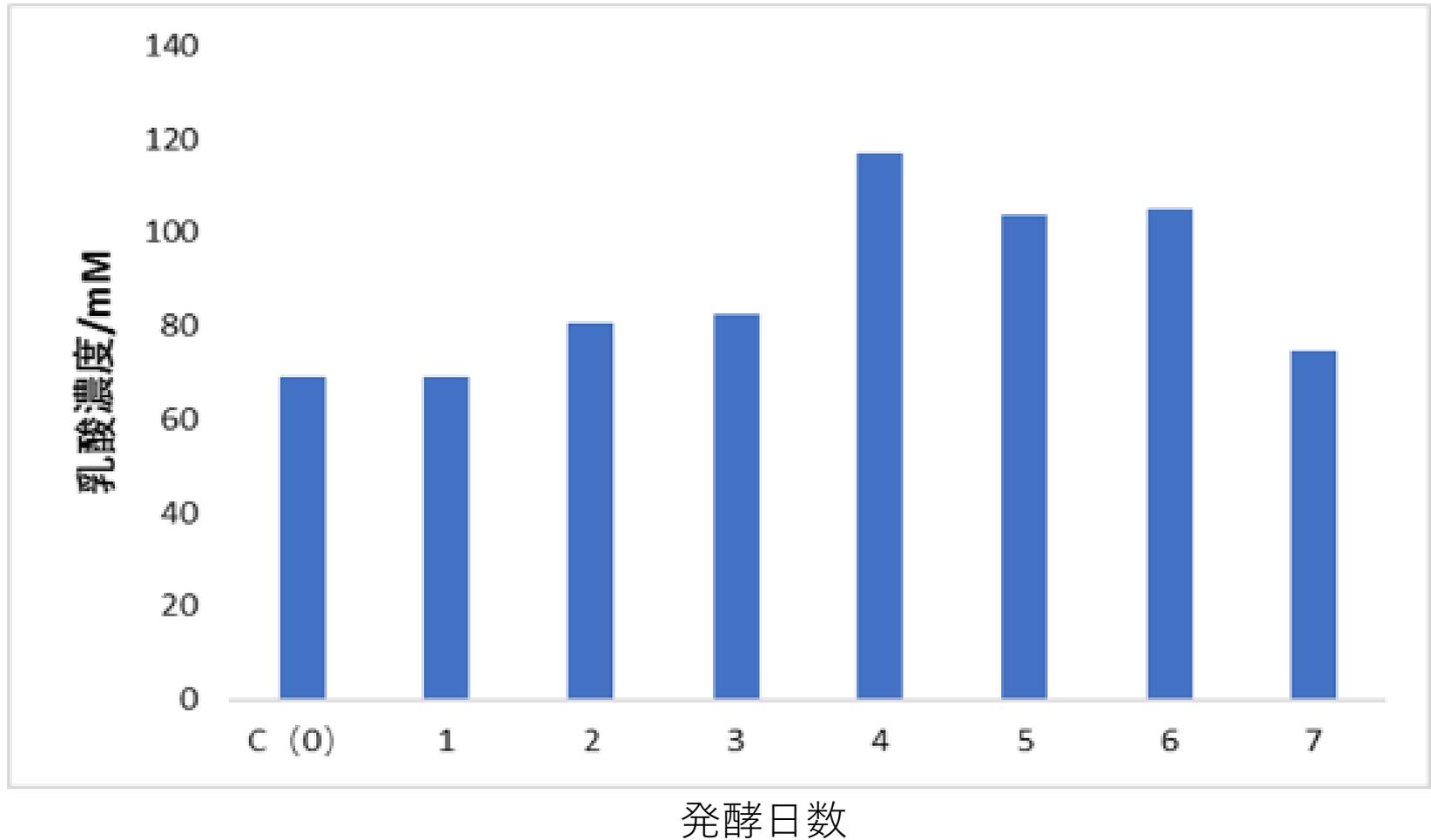


嫌気発酵
加水後
三十七度

殺菌乾燥
八十度三時間

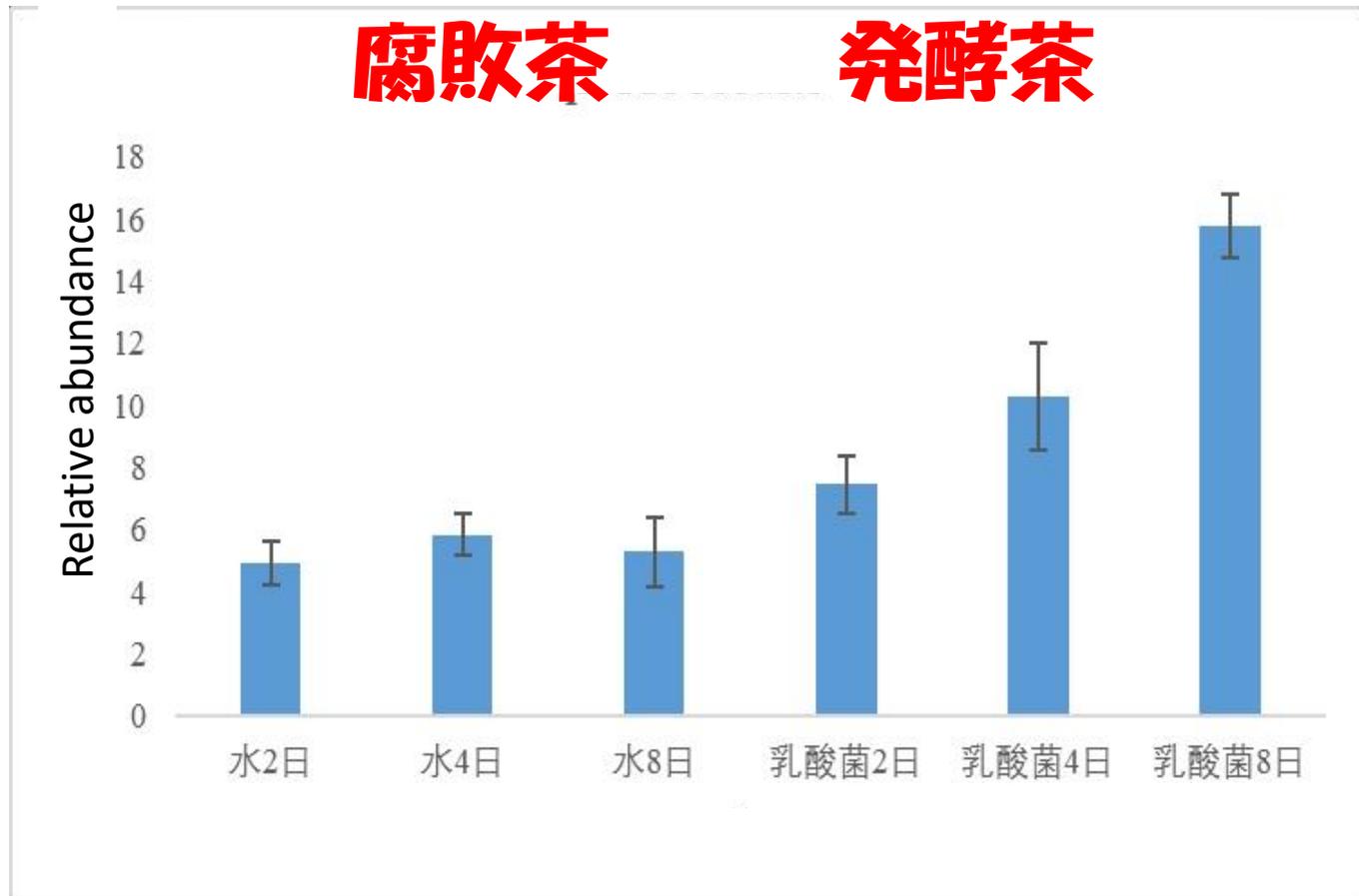
上々流
乳酸菌
発酵茶

乳酸の生産に必要な時間



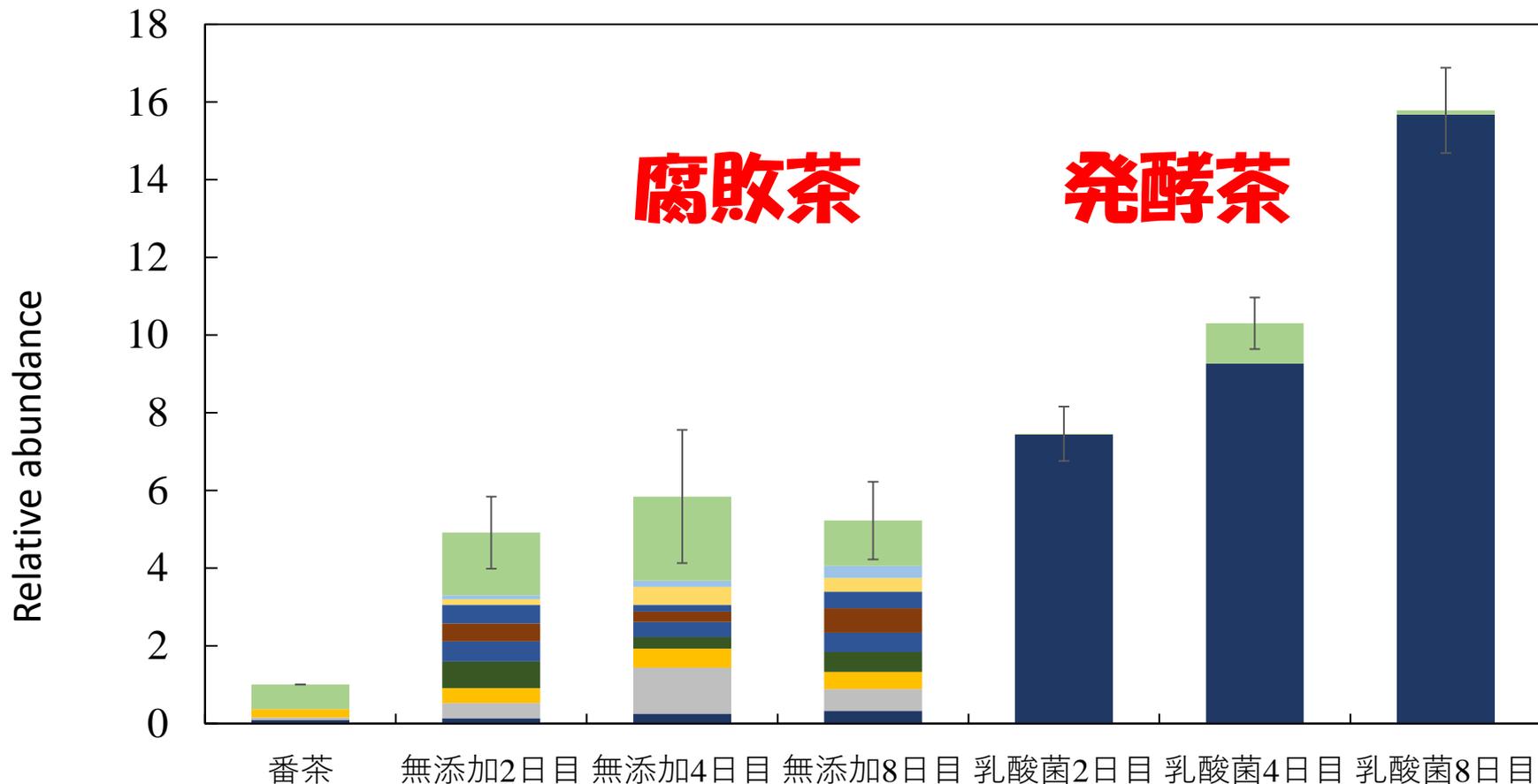
4日程度で乳酸は最大に

サンプル中に含まれる16SrRNA遺伝子の相対量



試料間の菌数比較を可能にする

上ヶ流乳酸菌発酵茶の微生物叢



Lactobacillus
Delftia
Achromobacter

Acinetobacter
Stenotrophomonas
Bacillus

Pseudomonas
Bosea
Massilia

汚染を確認せず

できました



上々流乳酸菌発酵茶

謝辞

本研究の一部は

美味技術学会

の支援によるものです。

天空の里上ヶ流茶摘み



イベント予告

2022年5月末～6月初（予定）