梅漬塩蔵中の変敗原因となる産膜酵母の発生機構の解析

恩田 匠*・乙黒親男*・飯野修一*・後藤昭二**

Analysis of Mechanism of Decomposing Process Contaminated with Film-forming Yeasts in 'Ume-zuke', Salted Ume-processed Product

Takumi ONDA*, Chikao OTOGURO*, Shuuichi INO* and Shoji GOTO**

* Bio-technology Section, The Yamanashi Industrial Technology Center,
2094, Otsu-cho, Kofu-shi, Yamanashi 400.

** Emeritus Professor of Yamanashi University and Visiting Researcher
of The Yamanashi Industrial Technology Center,
4-5-13, Chizuka, Kofu-shi, Yamanashi 400.

'Ume-zuke', a salted ume-processed product which is manufactured from ume fruit (Japanese Apricot, *Prunus mume* Sieb. et Zucc. var. *microcarpa* Makino) by salting with sodium chloride, is one of the traditional food produced in Japan. There is a serious problem about deterioration of 'Ume-zuke' by film-forming yeast in recent trend of reducing salt concentration in food products. In present study, to clarify the mechanism in evolution of contamination with film-forming yeast in 'Ume-zuke', isolation, identification, and characterization of yeast, the surveying on the time course of changes in yeast flora, and some constituents in the decomposed 'Ume-zuke' sample during salting process were performed. All isolates were identified on the basis of standard biochemical and morphological tests as *Kloeckera apiculata* (17 isolates), *Pichia anomala* (37 isolates), *Candida guilliermondii* (14 isolates), *Debaryomyces hansenii* (29 isolates) and other un-identified *Candida* sp. (8 isolates). As a result of surveying of changes in yeast flora, *K. apiculata* from ume fruit was the dominant species at initial stage, but decreased progressively. On the other hand, with the salting period progress, strains of *P. anomala*, *C. guilliermondii* and *D. hansenii* increased subsequently. At the last stage of salting period, strains of *D. hansenii* were only detected after the rise of the pH of 'Ume-zuke'. And, successive decrease of organic acid content and the pH rise in 'Ume-zuke' caused by assimilation of *P. anomala* was observed. In conclusion, these results support the following mechanism. *P. anomala* which showed rapid growth and strong assimilation ability of organic acids in 'Ume-zuke' was the main film-forming yeast species together with *C. guilliermondii* promoting yeast contamination by pH rise in 'Ume-zuke'. And, *D. hansenii* and other yeasts increased because of pH rise, and its growth spread the yeast contamination.

(Received Sep. 4, 1996 ; Accepted Arp. 10, 1997)

近年、梅漬や梅干をはじめとする梅加工品も消費者の低塩化嗜好の傾向を受けていることから、その製品および製造工程における産膜酵母による汚染、いわゆる産膜汚染が発生しやすい現状にある。著者ら¹⁾は、既に梅加工品における産膜汚染防止法の確立のための端緒として、山梨県内の梅加工品製造業者から収集した、酵母汚

染により腐敗した製品や産膜汚染した塩蔵工程中の半製品から、酵母を分離し、その同定と諸性状の検討を行った。その結果、梅加工品を汚染する酵母として、*Debaryomyces hansenii*, *Pichia anomala*, *Pichia membranaefaciens*, *Torulaspora delbrueckii*, *Kloeckera apiculata*, *Candida famata*, *Candida krusei*, *Candida*

* 山梨県工業技術センター生物工学科 (〒400 山梨県甲府市大津町 2094)

** 山梨大学名誉教授・山梨県工業技術センター客員研究員 (〒400 山梨県甲府市千塚 4-5-13)

pelliculosa および未同定の *Candida* 属酵母などが存在すること、およびこれらの菌株の中には著しい耐塩性および低 pH 耐性を示す菌株が存在することを明らかにした。本邦における漬物類の産膜酵母に関する報告は少ないが、小崎ら²⁾ および加藤ら³⁾ の大根漬を対象にした検討から、*D. hansenii* が主要な汚染酵母であるとされている。本菌種は食塩を高濃度に含む食品において分離例が多い酵母である。著者らが梅漬から分離した *D. hansenii* も著しい耐塩性を有した¹⁾ ことから、梅漬の主要な汚染酵母は本菌種であることが考えられた。しかしながら、既報¹⁾ では無作為に収集した任意の試料から酵母の分離を行ったため、分離・同定された菌種のうちの主要汚染酵母の特定やそれら酵母による汚染過程については必ずしも明らかでなかった。また、梅漬塩蔵工程は、食塩濃度約 20% で有機酸を多く含むため pH が 2.0 付近となっており、このような微生物にとって過酷な生育条件での産膜汚染の発生機構は興味深いものがあった。

そこで、本報告では梅漬製造工程における産膜発生機構を解明するため、梅漬の塩蔵工程から時系列的に新たに酵母を分離し、その酵母フローラの変化とそれに伴う成分変化を時系列的に調査研究した結果について報告する。

実験材料および方法

1. 梅漬試料の作製と塩蔵

加工適熟期にある 1995 年産のウメ果実（‘甲州小梅’；Japanese Apricot, *Prunus mume* Sieb. et Zucc. var. *microcarpa* Makino）を水洗し、5 l 容量のプラスチック製の漬け込み容器に入れ、食塩を約 16% (w/w) になるように添加して梅漬試料を作製した。この容器の蓋を半解放したまま、山梨県内の梅加工品製造業者の工場内に放置した。この試料の塩蔵は、1995 年 6 月中旬から 3 カ月間行った。

2. 酵母の計数および分離

前項の方法で作製した塩蔵試料から、塩蔵直後より 1 週間毎に 6 週間後まで 7 回、さらに 3 カ月後の合計 8 回、酵母の分離を行った。酵母分離用試料の採取は、梅漬容器の液面から 5 cm 下付近までの漬け液を平均的に採取した。

分離用試料を滅菌した生理食塩水で $10 \sim 10^6$ 倍まで希釈し、その 0.1 ml を YM 寒天平板培地¹⁾ および 5% の食塩を添加した YM 寒天平板培地上に平板塗抹培養した。培養 4~7 日後にコロニー数を計測するとともに、形態的に代表的なコロニーを釣菌した。分離菌株は同培地

を用いて画線塗抹培養（25℃、3~7 日間）を数回行った後、以後の実験に供した。

3. 分離酵母の同定試験

前項の方法で分離した 226 株について、主にコロニーの形態、細胞の形状、さらに各種食塩濃度培地における生育の状況から類似菌株ごとに整理を行い、代表的な 105 菌株を選抜して同定試験に供した。分離菌株の同定試験は既報¹⁾ と同様に、栄養細胞、子嚢（有性）孢子形成、偽菌糸形成、DBB 染色反応、皮膜形成、ウレアーゼ活性、硝酸塩資化性、シクロヘキシミド耐性、ビタミン要求性、37℃ における生育、糖類の資化性および発酵性、ユビキノ型について調べた。

4. 分離酵母の各種食塩濃度および pH における生育試験

既報¹⁾ と同様に、各種食塩濃度における生育試験は食塩濃度を 0~20% に調整した YM 液体培地（pH 5.8）を用いて、各種 pH における生育試験は pH 2.0~5.0 に調整した梅酢液を用いて、20 日間静置培養を行った後、その生育状況と皮膜形成について観察した。なお、‘梅酢液’は、既報¹⁾ と同一の梅酢（食塩 15.94%、総酸 3.77%、pH 2.17）の原液を 1/2 に希釈したものをを用いた。

5. 分離酵母の有機酸の資化試験

上述した梅酢液（pH 2.17）に YM 液体培地を用いて前培養した各酵母菌株を生菌数約 10^5 CFU/ml になるように接種し、25℃ 静置培養した梅酢液中の有機酸（クエン酸およびリンゴ酸）含量（%）を 30 日間経時的に測定した。

6. 成分分析

成分分析は、酵母の分離用試料と同一のものをを用い、pH、有機酸（クエン酸およびリンゴ酸）および食塩含量について、既報¹⁾ に従って測定した。

実験結果および考察

1. 分離酵母の同定

分離菌株を形態学的性状と生理・生化学的性状を基に I~IV の 4 つのグループとそれらに含まれないその他のグループ（V）に分別した（Table 1, Table 2）。全ての菌株は真性菌糸を形成せず、DBB 染色反応が陰性であった。それぞれのグループに含まれる菌株の同定試験結果を、The Yeast : a taxonomic study（第 3 版）⁴⁾ および Yeasts : characteristics and identification（第 2 版）⁵⁾ の分類体系および標準記載と照合し、以下のように同定した。

(1) グループ I : *Kloeckera apiculata* (RESS-

Table 1 Spolulation, morphological and cultural properties of yeast strains isolated from the decomposed 'Ume-zuke', salted ume-processed product sample during salting procedure

Group	Number of isolates ^{a)}	Ascospore	Vegetative cell ^{b)}	Pellicle ^{c)}	Pseudo-mycelium
I	17	not detected	lemon	thin/no	no
II	37	detected ^{c)}	oval-elongated	heavy	tree-like/no
III	14	not detected	round-oval	wrinkled	tree-like
IV	29	detected ^{d)}	round	creeping	no
V	8	not detected	v	v	v

^{a)} Number of isolates used in the identification test.^{b)} On YM liquid medium containing 5% NaCl.^{c)} One hat-shaped spore, 1-4/ascus, ^{d)} one round spore/ascus.

Symbol : v ; variable.

Table 2 Physiological and biochemical properties of yeast strains isolated from the decomposed 'Ume-zuke', salted ume-processed product sample during salting procedure

Group	Fermentation of glucose	Assimilation of KNO ₃	Growth in cycloheximide		Urease	CoQ	Assimilation ^{a)}					
			0.01%	0.10%			Glucose	Galactose	Sucrose	Maltose	Lactose	Raffinose
I	+	-	-	-	-	6	+	-	+	-	-	-
II	+	+	-	-	-	7	+	-	+	+	-	+
III	+	-	+	+	-	9	+	+	+	+	-	+
IV	-	-	+	-	-	9	+	+	+	+	-	+
V	v	v	v	v	v	v	+	v	v	v	v	v

^{a)} Results were shown on representative sugars from 25 carbon compounds.

Symbols : + ; positive, - ; negative, v ; variable, * ; also fermentative.

EMENDKLOCKER) JANKE (*Hanseniaspora uvarum* (NIEHAUS) SHEHATA, MRAK et PHAFF の不完全型) ; 分離菌株数 17 株 (代表株 TH 1105)

このグループは両極出芽するレモン型の栄養細胞を呈し、子嚢胞子の形成は確認できなかった。ユビキノン型 (CoQ) は 6, 硝酸塩資化陰性, その他の生理・生化学的諸性状から, *Kloeckera apiculata* と同定した。

本菌種はブドウ果などから高頻度で分離され, 既報¹⁾においても梅加工品から分離されている。

(2) グループ II : *Pichia anomala* (HANSEN) KURTZMAN (*Hansenula anomala* (HANSEN) H. et P. SYDOW) ; 分離菌株数 37 株 (代表株 TH 1203)

このグループは, 帽子形の子嚢胞子を形成し, CoQ 7, 硝酸塩資化陽性および炭素源資化性・発酵性, その他の

生理・生化学的性状から, *Pichia anomala* と同定した。

本菌種は代表的な産膜酵母であり, 既報¹⁾においても耐塩性および低 pH 耐性を示す菌株が分離されている。

(3) グループ III : *Candida guilliermondii* (CASTELLANI) LANGERON et GUERRA (*Pichia guilliermondii* WICKERHAM の不完全型) ; 分離菌株数 14 株 (代表株 TH 2401)

このグループは多極出芽する栄養細胞をもち, 子嚢胞子が認められなかった。CoQ 9, 硝酸塩資化陰性, ウレアーゼ陰性, 偽菌糸をよく形成した。 *Debaryomyces hansenii* の不完全型の *Candida famata* (HARRISON) MEYER et YARROW と考えられたが, 偽菌糸の形成や後述する耐塩性および耐酸性がグループ IV の *D. hansenii* のそれと異なり, 炭素源の資化性・発酵性およ

びその他の生理・生化学的諸性状から, *Candida guilliermondii* と同定した。

既報¹⁾においても, 本菌種の類縁菌と考えられる菌種(未同定の *Candida* sp. UME-A と記載した)が分離されており, それらの菌株は著しい耐塩性かつ中等度好塩性⁹⁾ および低 pH 耐性を示した。

(4) グループⅣ: *Debaryomyces hansenii* (ZOPF) LODDER et KREGER-VAN RIJ; 分離菌株数 29 株(代表株 TH 2301)

このグループは多極出芽する栄養細胞をもち, 母細胞と出芽細胞の接合により 1 個ないし 2 個の球形子嚢胞子を形成した。CoQ 9, 硝酸塩還元陰性, 炭素源の還元性・発酵性およびその他の生理・生化学的性状から, *Debaryomyces hansenii* と同定した。この菌種の中には, 炭素源還元性試験用の培地において, riboflavin を産生するものが, 試験した 9 株中 8 株あった。また, 原因は不明であるが, それらの riboflavin 産生株はグリセロールを炭素源とした糖還元性試験用の寒天培地上でピンク色のコロニーを呈した。

本菌種は漬物などの高食塩含有食品からの分離例が多く, 既報¹⁾においても耐塩性かつ中等度好塩性⁹⁾ および低 pH 耐性を示す菌株が分離されている。

(5) グループⅤ: *Candida* sp.; 分離菌株数 8 株

上記の 4 つのグループに含まれない 8 株は, 多極出芽する栄養細胞をもち子嚢胞子を形成しないことから, *Candida* 属の酵母であり, いくつかの異なる菌種に相当

することが考えられた。

2. 分離酵母の各種食塩濃度および pH における生育
分離酵母の各種食塩濃度および pH における生育試験の結果を, それぞれ Table 3 および Table 4 に示した。*K. apiculata* に属する菌株は食塩濃度 10% まで生育し皮膜を形成したが, 15% 以上では生育が認められず, 非耐塩性であった。*P. anomala* に属する菌株は皮膜を形成しながら食塩濃度 15% まで生育した。*D. hansenii* および *C. guilliermondii* に属する菌株は食塩濃度 20% においても皮膜を形成しながら良好に生育する強い耐塩性を示した。

皮膜形成は pH の影響を大きく受けること¹⁰⁾ が知られている。対照菌株として用いた 4 株: *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4064, *Zygosaccharomyces rouxii* IAM 12879, *Candida versatilis* RIFY 4013, *Debaryomyces hansenii* RIFY 4164 は, pH 3.0 以下では生育が認められないか非常に弱く, 皮膜形成も認められなかった。梅漬から分離した酵母菌株は, 既報¹⁾と同様に pH 2.0 でも生育した。特に *P. anomala* および *C. guilliermondii* は pH 2.5~3.5 の酸性側で皮膜性が最も強く, pH 2.0 でも皮膜形成が観察された。また *D. hansenii* は pH 3.5 以上では強い生育および産膜性を示したが, pH 3.0 以下の低 pH 域ではその生育が弱くなった。

今回分離した *D. hansenii* の菌株群は, 対照菌株として用いた *D. hansenii* RIFY 4164 よりも高い耐塩性および低 pH 耐性を示し, 梅漬塩蔵環境により適応している

Table 3 Growth and film-formation of yeast strains at various concentrations of NaCl contained in YM liquid media

Group	Yeasts	Number of strains*	NaCl (%)						
			0	2.5	5	7.5	10	15	20
I	<i>K. apiculata</i>	(3)	+f	+f	+f	+f	+f	—	—
II	<i>P. anomala</i>	(14)	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
III	<i>C. guilliermondii</i>	(5)	+++	+++	+++	+++	+	+	+
IV	<i>D. hansenii</i>	(6)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Control	<i>S. cerevisiae</i> IAM 4064	(1)	+++	++	+	+	—	—	—
	<i>Z. rouxii</i> IAM 12879	(1)	+++	++	++	++	+	+	+
	<i>C. versatilis</i> RIFY 4013	(1)	+++	+++	+++	+++	+	+	+
	<i>D. hansenii</i> RIFY 4164	(1)	+++	+++	+++	+++	+++	+	+

All the test media were adjusted at pH 5.8. Yeast strains were inoculated into test media to 10⁵ CFU/ml. After inoculation, these culture were incubated at 25°C for 14 days. *: Number of strains used in this experiment. Symbols: +++; strong growth, ++; good growth, +; weak growth, —; no growth, f; film-formed. IAM; Institute of Applied Microbiology, Tokyo University, Tokyo, Japan, RIFY; The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Yamanashi, Japan.

Table 4 Growth and film-formation of yeast strains in ume-vinegar solution with various pHs

Group	Yeasts	Number of strains*	pH					
			2	2.5	3	3.5	4	5
I	<i>K. apiculata</i>	(3)	+	+	+	+f	+f	+f
II	<i>P. anomala</i>	(14)	++f	++f	+++f	+++f	+++f	+++f
III	<i>C. guilliermondii</i>	(5)	++f	+++f	+++f	++f	+f	+f
IV	<i>D. hansenii</i>	(6)	+	+f	+++f	+++f	+++f	+++f
Control	<i>S. cerevisiae</i> IAM 4064	(1)	—	—	—	—	—	—
	<i>Z. rouxii</i> IAM 12879	(1)	—	—	—	—	—	—
	<i>C. versatilis</i> RIFY 4013	(1)	—	—	++f	++f	++f	++f
	<i>D. hansenii</i> RIFY 4164	(1)	—	—	++f	++f	++f	++f

Legend and symbols are the same as those in Table 3. Ume-vinegar solution used was diluted at two-fold of original ume-vinegar containing 3.16% citric acid, 1.52% malic acid and 15.94% NaCl. Total acid was 3.77% (pH 2.17). The pHs of ume-vinegar solution was adjusted with NaOH or HCl solutions.

ことが推察された。

3. 分離酵母の有機酸の資化性

K. apiculata, *P. anomala*, *C. guilliermondii* および *D. hansenii* と同定された各グループの代表株、それぞれ TH 1105, TH 1203, TH 2301, TH 2401 の 4 菌株を用いて、その有機酸の資化性（分解性）について経時的に測定した結果を Fig. 1 に示した。*K. apiculata* TH 1105 は梅酢液において生育が微弱であり、有機酸をほとんど資化しなかった。一方、*P. anomala* TH 1203 と *C. guilliermondii* TH 2401 は梅酢液においてよく生育し、強い産膜性を示し、著しく強い有機酸の資化性を示した。最も強い有機酸の資化性を示した *P. anomala* TH 1203 は培養 3 日後から皮膜の形成が認められ、その後梅酢液中の有機酸が急激に減少し始めた。培養 20 日後には梅酢液中の有機酸のほとんどが消失し、それに伴い pH が 5.9 まで上昇して、梅酢液の色調は薄い紅色から茶褐色に変化した。*C. guilliermondii* TH 2401 は *P. anomala* TH 1203 について強い有機酸の資化性を示し、培養 6 日後に皮膜形成が認められ、その後有機酸が減少したが、クエン酸よりもリンゴ酸を優先的に資化する傾向が認められた。*D. hansenii* TH 2301 の梅酢液における生育は緩慢で、培養 12 日後に皮膜の形成が認められたが、梅酢液中の有機酸の減少も緩やかであった。

これまで、漬物類における乳酸を主とした有機酸の減少（消失）についてはいくつかの報告^{3)~8)}があり、酵母による資化の結果であると考察されているが、具体的な菌種について有機酸の資化を調べた例はなかった。加藤

ら³⁾ は、大根漬における酵母フローラの検討から、*D. hansenii* が有機酸の資化と pH の上昇に関与したと報告しているが、今回の梅酢を用いた検討においては、本菌種の有機酸の資化への関与は比較的小さいものと考えられた。

以上のことから、梅漬塩蔵工程において、酵母の生育の可否あるいは強弱を左右するのは、耐塩性よりも有機酸の資化能の強弱であることがわかった。

4. 塩蔵期間中の酵母フローラの消長と成分変化

塩蔵工程からの分離菌株数が多かった *K. apiculata*, *P. anomala*, *C. guilliermondii* および *D. hansenii* の 4 菌種の酵母群の、塩蔵過程における構成比および梅酢の有機酸含量と pH の変化を Fig. 2 に示した。

塩蔵中の梅漬の肉眼的状況の変化は次のようであった。塩蔵 3 週間後で梅漬試料の液面に薄い白色の産膜の発生が認められ、4 週間後から 5 週間後には皮膜が次第に茶褐色に着色し厚くなり、6 週間後では表面が白色で内部が茶色の比較的厚い皮膜（0.5 cm 程度）が形成された。6 週間後には皮膜表面に緑色の糸状菌（カビ）の繁殖も認められ、汚染された部分の梅漬の組織は崩壊していた。

酵母群の構成比を調べると、梅漬塩蔵直後では *K. apiculata* のみが認められたが、本菌種は徐々に減少し、4 週間後以降は検出されなくなった。分離された *K. apiculata* は上述したように、非耐塩性を示し、低 pH においては生育が弱くなり皮膜を形成しなかった。成熟したウメ果実からの酵母の分離・同定を別に行なったとこ

Fig. 1 Time course of change in organic acid content in the ume-vinegar solution by the growth of four yeast strains

The initial ume-vinegar solution contained 1.58% citric acid, 0.76% malic acid and 7.98% NaCl (pH 2.17). Yeast strains were inoculated into the ume-vinegar solution to 10^5 CFU/ml. Tested yeast strains: I; *Kloeckera apiculata* TH 1105, II; *Pichia anomala* TH 1203, III; *Candida guilliermondii* TH 2301, IV; *Debaryomyces hansenii* TH 2401. Symbols: solid line; total acid, dashed line; citric acid, dotted line; malic acid, thin line; pH. Arrows in the figure indicate the time when film-formation has started.

ろ、ほとんどは *K. apiculata* であったことから、塩蔵初期に主要な菌叢を示す本菌種の酵母は、ウメ果実に由来するものであり、高食塩濃度かつ低 pH の塩蔵環境には生育が適さず、塩蔵期間が進むにつれ次第に消失したことが推察された。

一方、皮膜形成が認められた3週間目前後から、*P. anomala* が、ついで *C. guilliermondii* が増加し、後半には *D. hansenii* が主要菌叢を占めた。また、実験データは示さなかったが、3カ月後にはほとんど *D. hansenii* が検出された。これらの3菌種は、塩蔵初期や原料果実から検出されないことから、工場内の環境から混入したものであると思われる。

梅酢の有機酸含量は、クエン酸およびリンゴ酸ともに3週間後から4週間後以降に大きな減少が認められ、それに伴い pH が上昇した。これらの有機酸の減少は、前述した有機酸の資化性試験の結果から判断して、*P.*

Fig. 2 Time course of changes in yeast flora, organic acid content and pH in 'Ume-zuke', salted ume-processed product decomposed during salting procedure

'Ume-zuke' sample was made of ume fruit by salting with 16% NaCl. Symbols: yeast flora (upper): $\circ$; *Kloeckera apiculata*, $\triangle$; *Pichia anomala*, $\square$; *Candida guilliermondii*, $\blacksquare$; *Debaryomyces hansenii*, organic acid and pH (lower): solid line; total acid, dashed line; citric acid, dotted line; malic acid, thin line; pH. The arrow in the figure indicates the time when film-formation has started.

anomala, *C. guilliermondii* および *D. hansenii* の3菌種が資化したことによるものと推察された。なかでも、特に塩蔵4週間後までの有機酸の減少に関与したのは、有機酸の資化能が強く、かつ低 pH 耐性および耐塩性を示した *P. anomala* と *C. guilliermondii* の2菌種であった。*D. hansenii* は強い耐塩性を示したが、有機酸の資化が緩慢で低 pH 域での生育が劣ることから、本菌種は上の2菌種が生育し、有機酸が減少、pH が上昇した後に優位に生育したことがわかった。当初 *D. hansenii* は高食塩濃度の食品を汚染する主要酵母であることから、梅漬においても主要汚染酵母であると考えたが、梅漬は有

機酸を高濃度で含み低 pH にあることから、有機酸の資化が緩慢で低 pH 域での生育が比較的弱い *D. hansenii* のみで産膜汚染が発生するとは考えられない。むしろ、*D. hansenii* よりも耐塩性は劣るが、梅酢液に最も旺盛に生育し、強い有機酸の資化能をもち、pH を中性付近にまで上昇させる *P. anomala* が、梅漬の産膜汚染を誘導する役割を果たす酵母であると推察した。また、この *P. anomala* および *C. guilliermondii* の生育により pH が上昇した後に、*D. hansenii* やその他の酵母が増殖し、産膜汚染がさらに進行することが考えられた。

以上のように、梅漬の塩蔵工程における産膜汚染の発生機構解明の一助となる知見を得た。梅漬においては、*P. anomala*、*C. guilliermondii* および *D. hansenii* の発生を、特に *P. anomala* の発生を抗菌性物質やその他の方法により制御することで、産膜汚染の防止が可能になることが推察された。

本邦における漬物類の産膜酵母に関する研究例は少ないが、小崎ら²⁾は大根漬の主要な汚染酵母はほとんど *D. hansenii* (*Debaryomyces nicotinae* GIOVANNOZZI) のみであるとしている。加藤ら³⁾は大根漬における酵母フローラの変化の検討から、塩蔵初期に *Saccharomyces servazzii* CAPRIOTTI が優勢に生育し、後に気温上昇などから *D. hansenii* が優勢になり、その結果 pH が上昇することによって、その他の酵母が増殖し、腐敗が起ると報告している。これらの大根漬における酵母フローラの変化と本研究との差異は、主に原料がウメ果実であることから果実由来の *K. apiculata* 菌種が多いことと、果実由来成分である有機酸が著量に含まれるため低 pH 条件下にあることに起因したことが考えられた。

要 約

梅漬の塩蔵工程の産膜汚染過程から経時的に酵母を分離・同定し、酵母フローラの消長と産膜汚染中の成分変化を調べ、以下の結果を得た。

(1) 梅漬塩蔵工程中出现する主要汚染酵母は、*K. apiculata*、*P. anomala*、*C. guilliermondii* および *D.*

hansenii の 4 菌種であった。

(2) 塩蔵中の酵母フローラの変化は、塩蔵初期には *K. apiculata* が、産膜が発生する塩蔵 3 週間目以降には *P. anomala*、*C. guilliermondii* および *D. hansenii* が主要な菌叢を示した。3 カ月後には、ほとんど *D. hansenii* のみが検出された。

(3) 塩蔵中の梅酢は産膜酵母の増殖に伴って、クエン酸およびリンゴ酸は顕著に減少したが、食塩濃度には変化が認められなかった。これらの有機酸の減少は、主に *P. anomala* および *C. guilliermondii* により資化されたことが明らかになった。

(4) 梅漬の産膜汚染を誘導する役割を果たす酵母は、有機酸の資化能が強い *P. anomala* であることがわかった。本菌種の増殖に伴って有機酸が資化され、pH が上昇することにより、塩蔵後期には耐塩性の *D. hansenii* が優位な菌叢を占め、産膜汚染がさらに進行することが明らかとなった。

文 献

- 1) 恩田 匠・乙黒親男・飯野修一・後藤昭二：食科工，44，407 (1997)。
- 2) KOZAKI, M. and SUMINOE, K.: *Mem. Tokyo Univ. Agr.*, 11, 50 (1967)。
- 3) 加藤司郎・中瀬 崇：日食工誌，33，659 (1986)。
- 4) KREGER-VAN RIJ N.J.W.: *The yeasts; a taxonomic study*, (3rd edition), (Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam), p. 1082。
- 5) BERNETT, J.A., PAYNE, R.W. and YARROW, D.: *Yeasts; characteristics and identification*, (2nd edition), (Cambridge Univ. Press, Cambridge)。
- 6) BROWN, C.W.J.: *J. Bacteriol.*, 1, 104 (1916)。
- 7) 小川敏男・小畑正行・鈴木 晋・浅見利造・青木睦夫：東京都農業試験場報告，3，139 (1964)。
- 8) 宮尾茂雄・青木睦夫：日食工誌，26，28 (1979)。
- 9) 好井久雄・金子安之・山田和夫：食品微生物学 (技報堂，東京)，p. 54 (1983)。
- 10) IIMURA, Y., HARA, S. and OTSUKA, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 44, 1215 (1980)。

(平成 8 年 9 月 4 日受付，平成 9 年 4 月 10 日受理)