

氏名	Chuon Mony Roth
----	-----------------

(論文内容の要旨)

カンボジアにはメコン川やトンレサップ川、トレンサップ湖といった豊富な漁場があり、これらは魚の種類と数の多さで世界でも有数の場所として知られている。そして、トレンサップ湖とトレンサップ川の豊富な漁獲はカンボジア国民の食生活にとって、欠くことのできない密接な関係を持っている。この湖と川はカンボジア国民に対して約40%という膨大な食糧を供給し、摂取タンパク質にして60%を補っている。ここで漁獲された魚からタク・トレイ（魚醤油）やカピ（エビの発酵ペースト）、プラホック（川魚の発酵ペースト）が生産されている。これらの伝統水産物発酵食品はカンボジアの主要な調味料であるにも関わらず、化学成分や微生物叢についての報告は存在しない。本研究ではタク・トレイ、カピ、プラホックの微生物及び化学特性について検討を行った。

水分、窒素、脂質、灰分、塩分、pHを測定した結果、タク・トレイは報告のあるイシルやナンプラーのそれと同様の値であった。遊離アミノ酸分析において、タク・トレイではアスパラギン酸、グルタミン酸、アラニンが多く含まれていた。カピの代表的な遊離アミノ酸は、アスパラギン、リジン、シトルリンであった。プラホックでは、グルタミン酸、アラニン、バリン、イソロイシン、ロイシン、リジンが主な遊離アミノ酸であった。また、有機酸分析において、タク・トレイは乳酸、酢酸を、カピは乳酸、酢酸、コハク酸を、プラホックは酢酸を多く含んでいた。これらの結果は、研究に用いたカンボジアの発酵食品は、乳酸菌以外の微生物により酢酸が作られていることを示唆している。香気成分の分析を行ったところ、タク・トレイの臭いはブタン酸や2-ブタノンなどの様々な香気成分が合わさって、独特なおいを醸し出していることが示唆された。プラホックには様々な酸、アルコール、アルデヒド類が含まれていた。カピの主な香気成分はトリメチルアミンとアルコール類であった。

これらの食品群から、培地を用いた単離法により微生物を分離し、16S リボソーム DNA (rDNA) 塩基配列に基づいて菌種同定を行った。その結果、魚醤油などの塩蔵発酵食品において報告が見られる耐塩性乳酸菌 *Tetragenococcus* 属細菌が分離されたものの、その他のグラム陽性細菌である *Clostridium* 属、*Bacillus* 属、および *Staphylococcus* 属といった細菌群も同等に分離された。さらに詳細に菌叢を把握するため、食品サンプルから直接 DNA を抽出し、PCR にて 16S rDNA 配列を増幅、一挙に多数の遺伝子配列情報を得られるピロシークエンサーを用いて網羅的に細菌叢を解析した。その結果、単離法の場合と同様に、プラホックにおいては発酵中に *Clostridium* の存在が確認されたが、発酵期間中期（約3か月目）には単離法では確認されなかった *Halanaerobium* 属細菌が優勢種として検出された。*Halanaerobium* は、海洋魚を用いて製造されたタク・トレイにおいても優勢であることが明らかになった。一方、川魚を用いて製造されたタク・トレイにおいては、発酵初期において優勢であった *Clostridium* および *Escherichia/Shigella* といった細菌群が熟成を終えた完成品では減少していることも確認された。

氏名

Chuon Mony Roth

(論文審査の結果の要旨)

伝統水産発酵食品の化学組成に関し、一般組成、遊離アミノ酸組成、有機酸組成を明らかにした。特に、有機酸組成においては、カンボジアの伝統水産発酵食品には、乳酸以外に多量の酢酸が含まれていることが分かり、発酵への乳酸菌以外の微生物の関与が示唆するものであった。さらに香気成分についても検討を行い、香気成分の生成メカニズムについて論理的に考察した。このように、カンボジアの伝統発酵食品の化学組成を、最新の技術を用いて明らかにしたことは、カンボジアに限らず、東南アジアの伝統水産発酵食品の成分的特徴の解明においても貴重な知見をもたらすものであり、また、これら食品の高品質化においても貴重な基礎的資料になり得るものと思われる。

次いで、これら発酵食品の微生物叢について、最新の分析技術を含む解析を行った。すなわち、カンボジア伝統水産発酵食品の菌叢解析を行った結果、これまでほぼ解析例のなかった該食品群の微生物学的特性をつまびらかにしたことにとどまらず、魚醤油等の塩蔵発酵食品の熟成に主に関与するとされてきた耐塩性乳酸菌 *Tetragenococcus* だけでなく、その他の多くの菌種が発酵に寄与しているという興味深い知見が得られた。各食品から多数の分離がみられた *Clostridium* 属細菌は、一部の例外を除いて発酵食品の製造に寄与するとは通常考えられていない菌種であり、発酵食品製造への微生物の関与という意味において定説を覆すと言ってもよい結果となっている。また、東南アジアの発酵食品の菌叢を次世代シーケンシング法を用いて網羅的に解析した学術的価値も極めて大きい。遺伝子解析による菌叢把握の技術は日進月歩であり、次々に新しい手法が生み出されている。その中において、これまでスポットライトが当たらなかったカンボジアの発酵食品に、最先端の技術を用いた科学的解析のメスを入れた本研究の功績は多大なるものがあると考えられる。

最後に、本論文は、カンボジアの伝統発酵食品の製造メカニズムを化学組成と微生物叢に関する研究を通して明らかにしたもので、カンボジアの伝統発酵食品に初めて科学のメスを入れた功績は大きい。また、化学分析と微生物解析の両者を行った結果、これら食品の熟成メカニズムが明らかとなったのみならず、*Clostridium* 属細菌が酢酸を生成することで、保存性を高めているという、初めての発見がなされた点も特筆すべき点である。この発見により、東南アジアの発酵食品になぜ酢酸が多く含まれているかという謎が解明されたことになる。

以上より、本論文は、カンボジアの伝統水産発酵食品の化学組成と微生物叢に関する初めての研究であり、カンボジアを含む東南アジアの伝統発酵食品の食品学的特徴を化学成分及び微生物叢の両面から明らかにした点は評価に値する。また、得られた知見は、これら食品の高品質化や高付加価値化に役立つ内容を含んでいることから、カンボジアの食品関連産業の発展にとっても必要不可欠なものと思われ、今後の応用面での発展が期待できる。

よって、本論文は博士（生物資源環境学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成26年 2月12日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（生物資源環境学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。