



Title	微生物を用いた新たな蜂蜜醗酵物の開発と応用
Author(s)	
Citation	令和3（2021）年度学部学生による自主研究奨励事業 研究成果報告書．2022
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/85624
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

令和3年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

ふ 氏	り 氏	が 氏	な 氏	かに 可児	ひろひで 裕英	学部 学科	工学部地球総 合工学科	学年	1 年
ふりがな 共 同 研究者氏名						学部 学科		学年	年
									年
									年
アドバイザー教員 氏名				内山 進		所属	工学研究科		
研究課題名				微生物を用いた新たな蜂蜜醗酵物の開発と応用					
研究成果の概要				研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。（先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。）					

○目的

蜂蜜は古来より良質な糖を含む食品として親しまれており、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、ポリフェノールなど 150 以上の良質な栄養素が含まれている。こうした成分を活かし、蜂蜜配合・添加された食品が数多く市場に出回っている。しかしながら、蜂蜜を発酵させた食品は数少なく、発酵させた蜂蜜の成分に関する科学的なデータはほとんどみあたらない。そこで私は蜂蜜の発酵物に可能性を感じ、微生物を用いて蜂蜜を発酵させることで、蜂蜜の新たな利用価値を見出すことができると考えた。

○試薬と方法

1 乳酸菌酵母菌を用いた蜂蜜の発酵

実験材料

- ・蜂蜜（国産未加熱品）
- ・乳酸菌酵母菌末（中垣技術士事務所製ホームメイド・ケフィア）

最初に蜂蜜を精製水で質量パーセント濃度 70%に希釈し、高圧蒸気滅菌器にて 120℃で 20 分間滅菌処理を施した。滅菌後の 70%蜂蜜希釈液を滅菌水で適宜希釈して、10、20%の蜂蜜水溶液を調整した。それぞれに乳酸菌酵母菌末を添加し、23℃、静置で 24 時間培養した。

また、70%蜂蜜希釈液に乳酸菌酵母菌末を添加し、30℃、静置で 1 週間培養した。

2 液体クロマトグラフィーによる分析

用意したもの

- ・0.1%ギ酸水
- ・0.1%ギ酸－アセトニトリル
- ・カラム（ZORBOX Eclipse Plus C18）
- ・液体クロマトグラフ測定装置：Vanquish Flex DADs (ThermoFischer Scientific)
- ・吸光度計：GENESYS 1XX (ThermoFischer Scientific)
- ・分析カラム：ZORBOX Eclipse Plus C18 2.1×100 mm 1.8-micron 600bar
- ・溶媒 A：0.1% ギ酸を含む純水
- ・溶媒 B：0.1% ギ酸を含む 90%アセトニトリル/10%純水 (v/v)

液体クロマトグラフィーの計測において、異なる蜂蜜濃度のサンプルを比較できるように、吸光度計を用いてすべてのサンプルの吸光度を同一に調整した。

3 質量分析による分析

- ・質量分析装置：LCQ Fleet (ThermoFischer Scientific)
- ・micro-flow pump: MP 711V (GL Science)
- ・ESI で＋イオンを測定：spray voltage = 4.0 kV, capillary temperature = 180℃
- ・data-dependent MS2 測定
- ・溶媒 A：0.1% ギ酸を含む純水
- ・溶媒 B：0.1% ギ酸を含む 90%アセトニトリル/10%純水 (v/v)

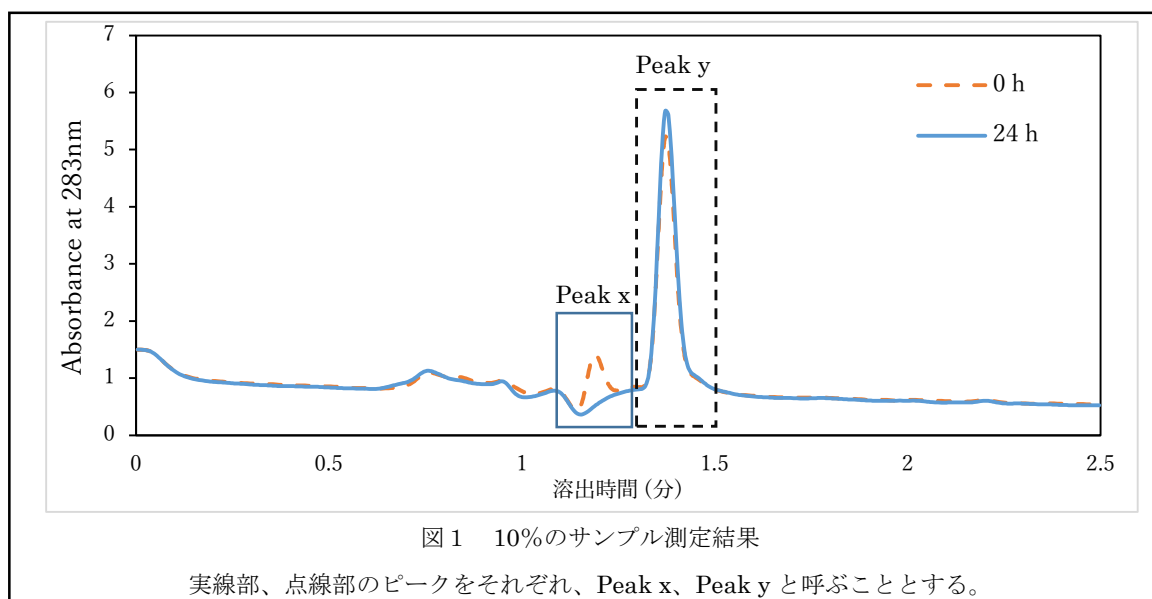
LC の分離条件

- ・分析カラム：InertSustain peptides (3 μm) (内径 0.1 mm、長さ 150 mm)

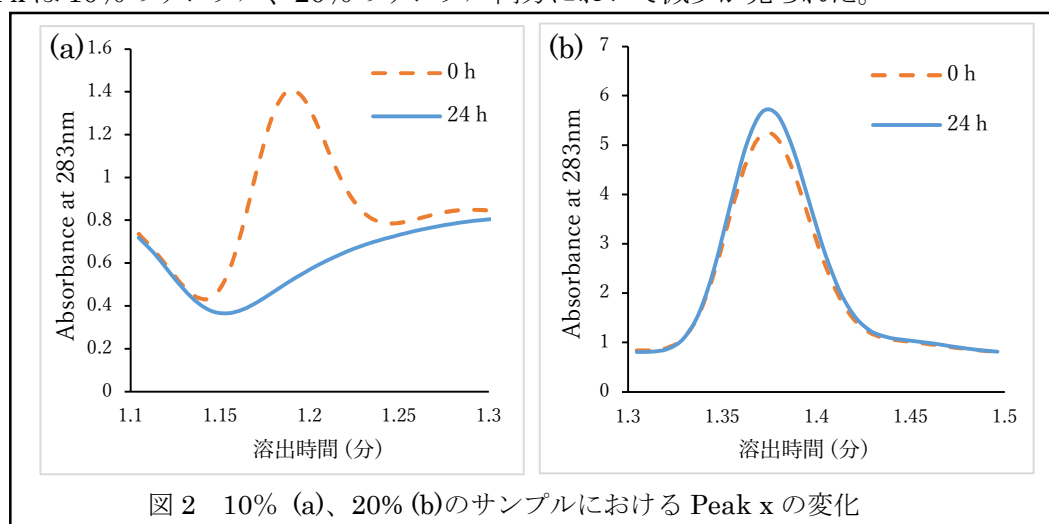
- ・流速：500 nL/min
 - ・Isocratic 溶出(溶媒は 0.1% ギ酸を含む 50%アセトニトリル/50%純水 (v/v))
- 分取した各ピークを真空乾燥後、20 μ L の溶媒 A で溶解し、そのうち 4 μ L をインジェクションした。

○結果

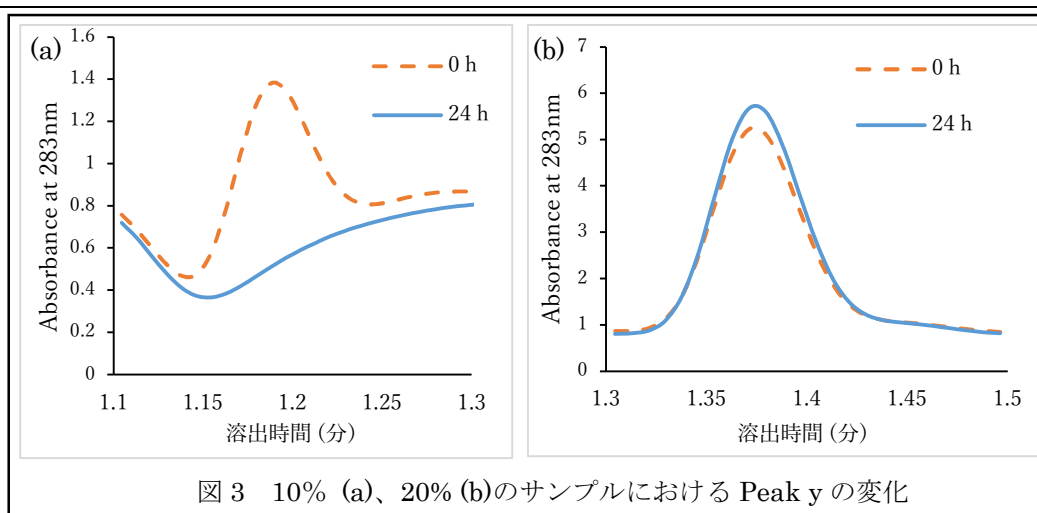
蜂蜜発酵サンプルを液体クロマトグラフィーを用いて分析した結果、10%、20%サンプル共に一部のピークに変化が見られた。(20%のデータは省略)



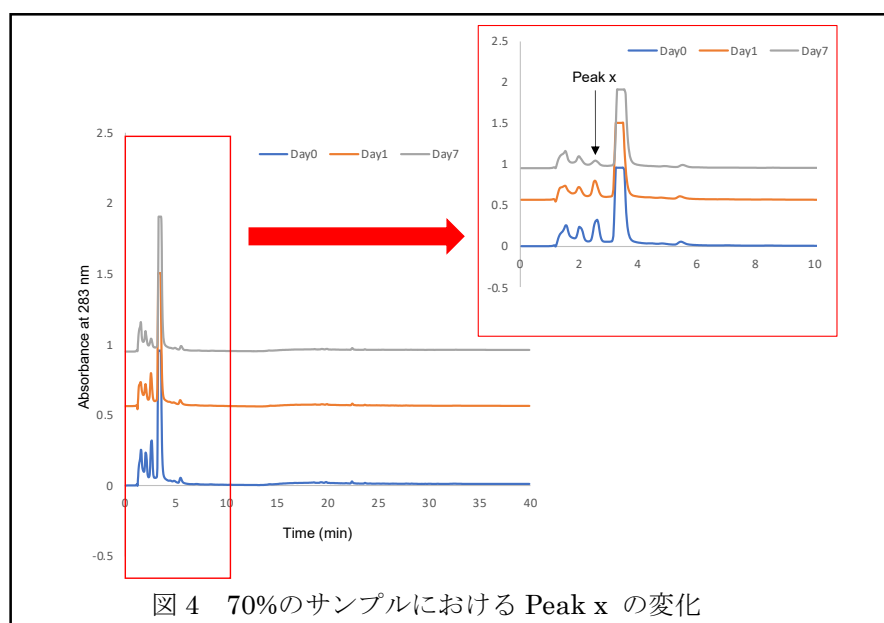
Peak x は 10%のサンプル、20%のサンプル両方において減少が見られた。



Peak y は 10%のサンプル、20%のサンプル両方において増加が見られた。



70%蜂蜜希釈液を用いた 7 日間の発酵試験においても、Peak x の減少が確認された。



この Peak x について MS 及び MS² を用いて分析を行なったところ、特定の m/z が得られた。

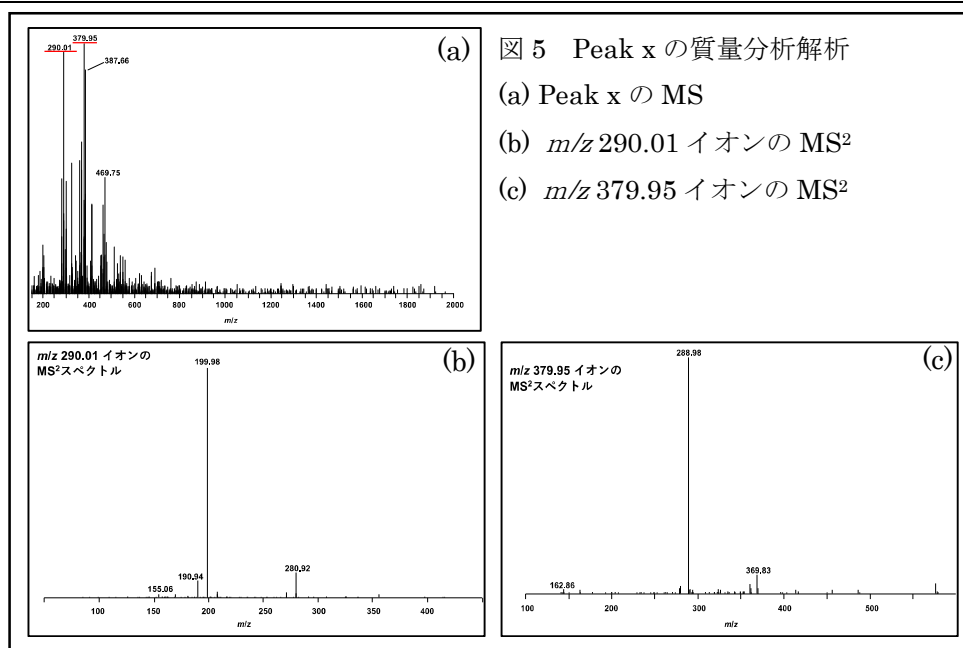


図 5 Peak x の質量分析解析

(a) Peak x の MS

(b) m/z 290.01 イオンの MS²(c) m/z 379.95 イオンの MS²

○課題・展望

発酵前後の蜂蜜を液体クロマトグラフィーで比較することによって、蜂蜜に含まれる peak x のピーク面積の減少および peak y のピーク面積の増加が確認された。そこで、peak x について、質量分析を行い化合物の同定を試みたが、特定には至らなかった。これらの化合物を特定するためには、さらなる解析が必要であるが、減少した化合物 x が好ましくない性質を持つ、あるいは増加が見られた化合物 y が有用な性質を持つ場合、蜂蜜の発酵物に大きな発展の可能性。そのため、蜂蜜発酵が見込まれる。以上の結果より蜂蜜発酵物の可能性については今後も探っていく価値があると考えられた。

今回の研究では、試験に用いる蜂蜜濃度や発酵日数、また発酵を行う微生物種を比較するサンプル数が少なかったことで、どのような条件が蜂蜜を発酵させるために適した条件を特定することができなかった。今後、さらに多くのサンプル条件を準備し、比較することで、新たな知見の取得が期待される。

○参考文献

<https://aizuyotuba.jp/sommelier/13794/>