

# 沖縄の伝統発酵食品と微生物～泡盛を中心に～

渡邊 泰祐<sup>1\*</sup>・塚原 正俊<sup>2</sup>・外山 博英<sup>1</sup>

沖縄は東アジアの中心に位置している。14世紀頃から江戸時代末期まで、琉球王国として東アジアや東南アジアと、日本本土との中継貿易で栄えた。その中で琉球王朝の飲食物や調理法は、当時の明または清からの使者を歓待する目的で発達し、いくつかの特徴的な発酵食品も生まれたと言われている。ここでは沖縄の伝統発酵食品について、発酵微生物との関連性を示しながら紹介する。

## 沖縄の伝統発酵食品

沖縄の発酵食品と言えば、代表として挙げられるものは豆腐ようや泡盛であるが、それ以外にもいくつかの伝統発酵食品があるので最初に挙げておく。

ソテツ味噌は、沖縄本島の北西約60 kmに位置する粟国島や鹿児島県南部の奄美群島などで生産されている味噌である。農作物があまり取れなかつた粟国島には、多くのソテツの群生地があり、ソテツの種子にはデンプンが多く含まれるので、米の代わりのデンプン源としてソテツが食されてきた。ソテツには有毒物質であるサイカシンという配糖体が含まれることが知られている。サイカシンから生成されるホルムアルデヒドは、中毒を起こすことから、水に晒してこれを取り除く作業が必要となる。毒素を完全に取り除くには、洗浄、乾燥、破碎を繰り返し、これらの工程で約2カ月が必要である。できあがったソテツデンプンに米麹を加えて、麹を作った後、塩、大豆などを加えて熟成させる。ソテツ味噌は調味料としてだけでなく、甘味があるのでお茶請けとしても食されている。

スクガラスはアイゴの稚魚（スク）の塩辛である。毎年7~8月の大潮の日に収穫されるスクを塩漬けにして、3か月あるいはそれ以上熟成させる。沖縄では、豆腐の上に乗せて食されるのが一般的である。スクガラスは塩辛の一種であることは間違いないが、基本的に自己消化が主と考えられる。スクガラス微生物叢に関する解析は一部行われているものの<sup>1)</sup>、微生物による発酵がどの程度関わっているのかは明らかではない。

## 豆腐ようにおける複菌麹の効果

沖縄独特の豆腐発酵食品である豆腐ようは、琉球王朝時代に中国福建省から伝來した腐乳を改良したものである。米麹と泡盛を含む漬汁（もろみ）に乾燥させた豆腐を漬け込んで熟成させる。紅麹菌が生産する赤色色素に

より赤色を呈するほか、麹菌由来の酵素の働きで独特のテクスチャーや香味が形成される<sup>2)</sup>。豆腐から作られたとは思えないような、ソフトチーズのような食感と風味がある。

豆腐ようの製法の特徴としては、原料である大豆を直接発酵させるのではなく、一度できあがった豆腐を改めて発酵の材料として用いているという点が挙げられる。豆腐ようの原型と言われる腐乳の製法では、麹を付着させた豆腐を塩水に漬けるので、塩辛く、お粥などに入れて食されている。一方、豆腐ようでは漬け汁として塩水の代わりに泡盛を用いるので、塩分が抑えられ、そのままでも食べやすく改良されている。漬汁中のアルコール濃度は20%にも達することから、麹菌由来のプロテアーゼ活性が適度に抑えられ、大豆グロブリンの過度の分解を抑えることができるので、絶妙のテクスチャーとなることが明らかにされている<sup>2)</sup>。豆腐ようの製法は、首里城城下の限られた人しか知らない秘伝の製法であったが、安田正昭（現・琉球大学名誉教授）らの尽力により产业化され、現在では広く知られるようになった。

安田らは、紅麹菌と黄麹菌を混合させた複菌麹の使用が、豆腐ようの品質にどのような影響を及ぼすかについて報告している<sup>3~5)</sup>。豆腐ようもろみ中の還元糖量を調べた結果、紅麹菌を使用した場合よりも、黄麹菌を使用した場合の方が還元糖量は多く、さらに両方の麹菌を用いた複菌麹の場合の方が、還元糖量が多いことが分かった。一方、もろみ中のグルコアミラーゼ活性を比較した結果、熟成期間を通して、複菌麹を使用した場合にもっとも活性が高く、次いで黄麹菌、紅麹菌の順であった。また、豆腐よう中の還元糖量を調べても、やはり複菌麹、黄麹菌、紅麹菌の順で高かった。以上の結果から、複菌麹を用いた豆腐ようにおいて還元糖量が増加するのは、複菌麹にすることで、もろみ中のグルコアミラーゼ活性が高くなつたためであると考えられた。すなわち、複菌麹を使用して豆腐ようを製造することは、豆腐ように甘味を提供するために有効であることが示された。

## 泡盛と泡盛黒麹菌

泡盛は沖縄県の代表的な伝統発酵食品である。泡盛の原型と考えられる蒸留酒は、14~15世紀に初めて琉球に輸入されたと考えられている。琉球王国は中国や東南アジアの国々と貿易を行っていたので、輸入品の中にこ

\*著者紹介 琉球大学農学部亜熱帯生物資源科学科（助教） E-mail: t-wata@agr.u-ryukyu.ac.jp

<sup>1)</sup>琉球大学農学部亜熱帯生物資源科学科 <sup>2)</sup>株式会社バイオジエット

## 特 集

これらの国々からの蒸留酒が含まれていて、その後蒸留酒に加えて基本的な蒸留技術や醸造技術が琉球に伝わり、さらに得られた情報を基に琉球独自の試行錯誤の結果、泡盛の製法が確立されたと考えられる。それ以後、泡盛は亜熱帯気候である琉球に合うように、さらに改良、洗練され、貴重な輸出品として重要な役割を果たすようになった。

泡盛の蒸留技術の伝来ルートには、2つの説がある。1つは南ルート説で、交易が盛んであったシャム（現在のタイ）から伝來したという説である。タイの米焼酎である「ラオ・ロン」の風味が泡盛と似ていること、醸造に用いられた甕や蒸留器が、泡盛を造るときに使われていたものと似ていたというのが根拠となっている。もう1つは北ルート説であり、中国貴州省を経由して、福建省から伝來したという説である。福建省に米焼酎が存在すること、泡盛と同様に泡立ちでアルコール度数を計測する方法があること、進貢貿易による交流が盛んであったこと、食文化が類似していることなどが、その根拠になっている。

一方、泡盛の醸造技術は、上記のルートとは異なる可能性があると考えている。それは、泡盛の醸造では「黒麹の散麹（ばらこうじ）」が用いられるからで、この手法は世界的に見ても独特な方法であると言える。泡盛をはじめ、焼酎、日本酒では、「散麹」という蒸米一粒ごとに麹菌を生育させた麹を用いるのに対して、東アジアや東南アジアの多くの地域では、生デンプンに麹を生育させる「餅麹（もちこうじ）」という製法が用いられている。中国では餅麹が主であるものの、福建省の北側に位置する浙江省では、黄酒の醸造に「烏衣紅曲」と呼ばれる散麹が用いられており、日本の製法と同様に蒸米で麹が造られる。烏衣紅曲は、紅麹菌、酵母、黒麹菌の混合培養麹であり、*Aspergillus saitoi*が分離されたとの報告がある<sup>6)</sup>。和久らは、烏衣紅曲の製法が、琉球王国との交流が盛んであった福建省から浙江省に伝えられた方法であることから、泡盛黒麹菌の起源は福建省にあるのではないかと考察している<sup>6)</sup>。しかしながら、黒麹菌のみの散麹を醸造に使用している例は中国にはない。散麹を使う醸造技術は、日本から移入した可能性が高いが、*Aspergillus oryzae*ではなく、*Aspergillus awamori*や*A. saitoi*を使用した「黒麹の散麹」の技術は、琉球で開発されたに違いないと筆者らは考えている。すなわち、麹を使用する醸造技術は、最初は蒸留技術と共に伝來した可能性が高いが、沖縄の気候風土に合うよう改良された結果、「黒麹の散麹」を使用するようになったと考えている。

また、麹に用いられるスターター菌は、アジアのほとんどの地域でクモノスカビ *Rhizopus* やケカビ *Mucor* で

あるのに対して、泡盛では黒麹菌のみである。アジアでは生デンプンを麹にしているのに対して、日本では蒸米であるので、加熱によるデンプンの立体構造の変化が原因で、生育てくる菌種が異なるようになったと考えられる。泡盛黒麹菌として用いられている *A. awamori* と *A. saitoi* は、*Aspergillus niger* (*A. niger* の一部は、猛毒であるオクレトキシンを生産する) と同種ではないかと長年指摘されてきた。しかし、最近行われたゲノム解析によって、*A. awamori* と *A. saitoi* は、*A. niger* とは明らかに異なる種であること（図1）<sup>7)</sup>、現在使用されている泡盛黒麹菌はオクレトキシン生合成遺伝子を持たないことが報告されている<sup>8)</sup>。

### 泡盛醸造におけるバニリンの生成

泡盛の特徴の1つとして、甕などの容器に長期保存（通常3年以上）することによって、熟成されることが挙げられる。熟成した泡盛は古酒（ケース）と呼ばれ、高く珍重されている。古酒化は、泡盛の貯蔵中に起こる味と香りの品質向上（熟成）であるが、科学的な定義はない。熟成過程に生成される代表的な古酒香としてバニリンが

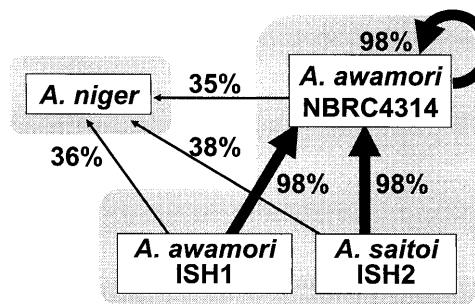


図1. 黒麹菌のゲノムDNA塩基配列の比較。次世代DNAシークエンサー SOLiDを用いたCoverage analysisによって相同性を調べた。本データは、沖縄先端ゲノムプロジェクトの協力によって得られた。

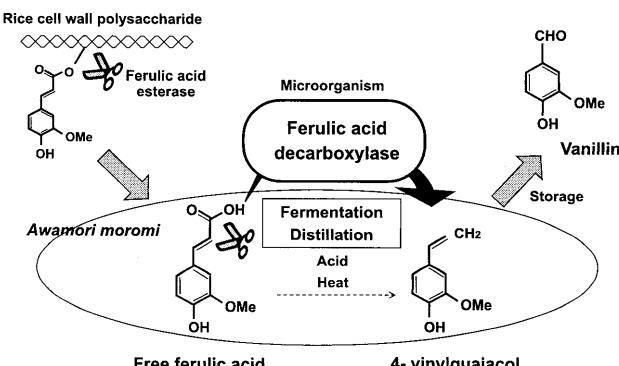


図2. 泡盛醸造におけるバニリンの生成過程

ある(図2)。バニリンは原料米中のフェルラ酸から生じる。すなわち、原料米の細胞壁多糖にエステル結合しているフェルラ酸が、黒麹菌由来のフェルラ酸エステラーゼによって、泡盛もろみ中に遊離され、この遊離フェルラ酸の一部が脱炭酸され、4-ビニルグアヤコール(4-VG)に変換される。この4-VGがバニリンの前駆体であり、4-VGは蒸留によって泡盛に移行するが、バニリンそのものは蒸留されない。したがって、4-VG含有量が多い泡盛が、熟成に伴いバニリン香に富んだ古酒となる。フェルラ酸から4-VGへの変換は、発酵中の酸や蒸留時の熱によると考えられていたが、もろみ中に含まれる細菌 *Lactococcus lactis* や *Bacillus amyloliquefaciens* が生産するフェルラ酸脱炭酸酵素が、4-VG生成、すなわち泡盛の古酒化に関与していることが明らかになっている<sup>9,10</sup>。現在、4-VGを多く生産する泡盛醸造技術が確立され<sup>11</sup>、その技術を使って作られた泡盛が商品化されている。

### 複菌麹が泡盛の酒質に与える影響

現在、沖縄県内には種麹店が1店舗のみ存在し、泡盛醸造所の8割以上がこの種麹を用いている。種麹には *A. awamori* と *A. saitoi* の2種類の黒麹菌が混合して用いられている。これらを比較すると、*A. awamori* は  $\alpha$ -アミラーゼ生産能力が高く、クエン酸生産能は比較的低いの

に対し、*A. saitoi* は糖化力が低いもののクエン酸を大量に生産することができる(表1)<sup>12</sup>。したがって、これら2菌株は、泡盛醸造に重要な性質( $\alpha$ -アミラーゼ活性が高いこととクエン酸生産能を有すること)を互いに補い合っており、この2菌株を混合する手法は、雑菌が生育しやすいと考えられる亜熱帯気候の沖縄に適した方法であると考えられる。

一方、*A. awamori* と *A. saitoi* の2株を用いる「複菌麹」が、泡盛の酒質にどのような影響を与えるかについては明らかではなかった。一般的に酒質に影響を与えると考えられる要因としては、蒸留法や蒸留器あるいは蒸留画分の選択、そして酵母の影響などが挙げられ、たとえば、果物様の香気成分であるカプロン酸エチルや酢酸イソアミルは、泡盛酵母によってアルコール発酵時に生成されることが知られている。そこで、*A. awamori* と *A. saitoi* で調製した麹の混合比率の変化が、泡盛の香気成分と4-VG濃度に及ぼす影響について検討した(図3)<sup>13</sup>。小仕込み試験の結果、*A. awamori*のみの麹から調製した泡盛の4-VG濃度は、*A. saitoi*のみで調製した場合に比べ高かった。複菌麹で調製した泡盛中の4-VG濃度は、一種類の株のみの麹(単菌麹)から調製した場合とほぼ変わらないことが予想されたが、驚いたことに複菌麹の方が4-VG濃度が高くなる傾向が示された。すなわち、複菌麹が泡盛中の香気成分の組成に影響を与えることが明らかとなった。酢酸イソアミルや酢酸エチルでも4-VGと同様に、複菌麹の方が高濃度になることが分かった。一方、イソブチルアルコール、イソアミルアルコール、*n*-カプリン酸エチルなどは、単菌麹の方が高い濃度であったことから、香気成分ごとに、複菌麹の影響が異なることがわかった。現在、前述2株の混合比率を変化することによる酒質の多様化について、実用化レベルで検討が行われ、この特性を利用した泡盛も既に商品化されている。

表1. 2種類の泡盛黒麹菌を用いた単菌麹の酸度と $\alpha$ -アミラーゼ活性の比較。実験室で38°C、42時間製麹した黒麹について調べた。

泡盛黒麹菌	酸度	$\alpha$ -アミラーゼ活性 (U/g)
<i>Aspergillus awamori</i> ISH1	3.21	<b>4.09</b>
<i>Aspergillus saitoi</i> ISH2	<b>5.95</b>	2.89

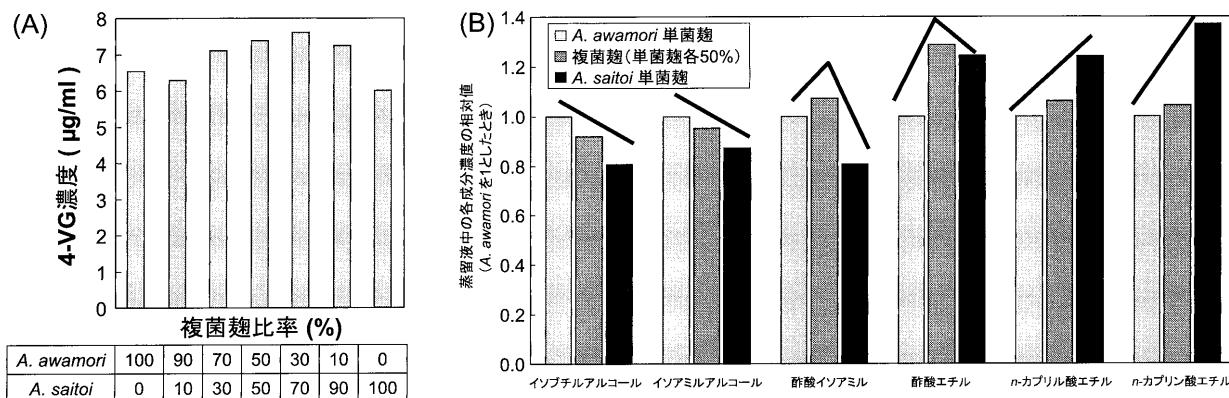


図3. 泡盛蒸留液成分の濃度に対する複菌麹比率の影響。(A) 4-VG濃度に対する影響。(B) 香気成分濃度に対する影響。

## 特 集

### 泡盛もろみの菌叢解析

現在、泡盛酒造所で用いられている黒麹菌と酵母の多くは、一部を除きほぼ同一の菌株である。黒麹菌については前述したように、*A. awamori*と*A. saitoi*の複菌麹であり、酵母については泡盛101号酵母という泡なし酵母が広く用いられている。しかしながら、製造される泡盛の風味は、各酒造所で異なっていて多様性に富んでいる。この違いは、蒸留などの製造工程の違いによるが、もろみ中で黒麹菌や酵母と共に存している細菌叢の違いが、香気成分に影響を与える可能性もある。そこで、沖縄の各酒造所の泡盛もろみに含まれる菌叢の違いについて、寒天培養法、PCR-DGGE法による解析を行った<sup>14)</sup>。その結果、酒造所ごとに異なる菌叢、すなわち蔵付きの微生物が多いことがわかった。また、同一酒造所において、発酵日数毎に微生物叢が変化することや、仕込み容器の違いが微生物叢に影響を与えることも報告されている。前述の4-VGのように、もろみ中の微生物が香気成分に影響を与えることが知られているので、泡盛の風味や熟成に、これらの蔵付き微生物が実際に影響を与えるかが注目される。

### 泡盛黒麹菌の細胞壁多糖組成の変化

泡盛醸造では、泡盛黒麹菌を用いて米デンプンを糖化させる。その際、黒麹菌は蒸米中に菌糸を伸長させる。この菌糸は破精込み菌糸と呼ばれ、この菌糸先端からデンプンを糖化するアミラーゼなどが分泌されることから、破精込み具合は麹の出来を評価するために重要な指標となっている。特に、泡盛は一度の仕込みですべての原料を仕込む「全麹仕込み」で醸造を行うため、破精込み菌糸に関する理解は重要と考えられる。筆者らは、この破精込み菌糸と麹表面に生育した菌糸の位相差顕微鏡観察を行った結果、破精込み菌糸は麹表面菌糸に比べて明らかに細い形態であったので、これらを別々に分離してその細胞壁多糖組成を調べた<sup>15)</sup>。*A. awamori*の細胞壁画分を硫酸加水分解して得られた単糖の割合について、HPLC分析によって定量的に評価した。麹表面菌糸と破精込み菌糸はどちらも、グルコース、ガラクトース、グルコサミン、マンノースを含んでいた。近縁の*Aspergillus fumigatus*の細胞壁多糖組成は、グルカン、キチン、ガラクトマンナンであることが既に報告されているので<sup>16)</sup>、*A. awamori*の細胞壁糖組成も*A. fumigatus*と同様であることが示唆された。なお、ここで検出されたグルコサミンは、キチン由来と考えられた。麹表面菌糸のグルコサミン量は、破精込み菌糸よりも多かったので、気中に菌

糸を生育させるためには、細胞壁構造により多くのキチンが必要となると考えられた。一方、破精込み菌糸では、キチンの割合が少なく、またガラクトースやマンノースの検出量も減少したので、ほとんどグルカンで形成されていると考えられた。これはほんの一例に過ぎないが、泡盛黒麹菌は環境に対応して、細胞壁多糖組成を大きく変化させていることが示唆された。

### おわりに

沖縄県の持つ地理的・歴史的な特徴や背景は、他の都道府県とは大きく異なる。したがって、沖縄には特徴的な伝統発酵食品が多数存在すると考えていたが、これまで調査した範囲では、さほど多くはないという印象である。温暖な沖縄では年間を通して食材が豊富にあるため、発酵によって食品を保存するという考えが定着しにくかったのではないかと考えられる。しかしながら、沖縄にはまだ知られていない、特に各家庭で作られていたような伝統発酵食品が存在している可能性もあり、引き続き調査が必要である。今回紹介した発酵食品においては、発酵に関わる微生物の機能や酵素の働きについてある程度は調べられているが、科学的なアプローチでさらに詳細に調べることが求められている。また、亜熱帯地域特有の発酵微生物叢を解析し、微生物の共生関係を積極的に利用することによって、新たな魅力をもつ発酵食品を提供することが期待される。これらの研究成果を蓄積することによって、地域や発酵産業へ大きく貢献することができると考えている。

### 文 献

- 1) 常盤 豊ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p.245 (2011).
- 2) 安田正昭：食品と科学, **29**, 106 (1987).
- 3) 安田正昭ら：日食工誌, **40**, 331 (1993).
- 4) 安田正昭ら：日食工誌, **41**, 184 (1994).
- 5) 安田正昭ら：日食工誌, **42**, 38 (1995).
- 6) 和久 豊ら：釀協, **91**, 290 (1996).
- 7) 塚原正俊ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.89 (2009).
- 8) Yamada, O. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **112**, 233 (2011).
- 9) 塚原正俊ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.161 (2007).
- 10) 前野沙耶架ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.88 (2009).
- 11) 塚原正俊ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.148 (2008).
- 12) 塚原正俊ら：発酵・醸造食品の最新技術と機能性II, p.161, シーエムシー出版 (2011).
- 13) 富木崇史ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.94 (2010).
- 14) 喜舎場拓ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, 講演番号3C20a05 (2012).
- 15) 伊川秀治ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.182 (2011).
- 16) Fontaine, T. et al.: *J. Biol. Chem.*, **275**, 27594 (2000).