

## Ⅱ-1. ネパールにおける伝統的な発酵食品の調査 および食品微生物の調査

食品総合研究所応用微生物部微生物利用第1研究室

新 國 佐 幸

### 1. 目的

ネパール国は、東経約80度から88度、北緯26度から30度付近に位置し、東西約800km、南北約160kmの長方形の内陸国で、面積は約147,000km<sup>2</sup>であり、北海道の約2倍の面積である。我が国の南西諸島とほぼ同緯度であるが、南はインドに接する低地地方（タライ地方、標高約300m）、北はチベットに接するヒマラヤ山岳地帯まで高低が著しいため、その気候条件は亜熱帯から寒帯まで変化に富む。

また、中尾<sup>1)</sup>は「照葉樹林文化」説を提唱し、アジアの照葉樹林帯には共通的な文化的要素の存在が認められるとしている。この照葉樹林帯はネパール・ヒマラヤからアッサム、ビルマ北部、タイ北部、雲南、江南地方を経て、台湾、日本につながるといわれ、カビを使う発酵酒や大豆発酵食品がその共通的文化的要素にあげられて<sup>1,2)</sup>おり、ネパールにも日本と同様、カビを使う発酵酒や日本の納豆に良く似た大豆発酵食品がある。これらの発酵食品の多くはまだほとんど調べられていない。

このため、様々な気候条件をもち、かつ日本と共通的な発酵技術をもつネパール国に滞在して、この国の発酵食品を調査し、微生物を利用する技術を調べるとともに、有用菌を分離・収集する。

### 2. 実施の概要

#### ①試料の収集

ネパール国農務省中央食品研究所（Central Food Research Laboratory, CFRL）所長 T. カルキ博士の助言と援助のもとに、カトマンズ、ポカラ両市を中心に試料を収集した。

当初予定したネパール国南部の亜熱帯地域での試料の収集は、1988年8月21日に発生した大地震によりかなりの被害が出たため、カルキ博士が外国人である筆者の身の安全を懸念すると共に、所員の同行に難色を示したので中止した。

試料の収集にあたっては、案内や通訳、車の手配等の便宜をCFRLから受けた。

#### ②発酵食品の調査

現在、CFRLの所長 T. カルキ博士は日本では餅麴とよばれるネパールの麴「マーチャ」について、その品質評価法の確立と有用微生物の分離を研究の課題として取りあげている。有用微生物の分離という点で筆者の出張目的と一致したため、共同で「マーチャ」の品質評価法の確立と優良「マーチャ」からの有用微生物の分離を行うこととした。

このためCFRLの微生物研究室において、まず、収集した「マーチャ」4点を用いて、少量の水を加えた蒸し米を3日間30℃で発酵させ、発酵米を調製した（図3）。発酵米のpH、酸度、還元糖、全

糖，アルコールを測定すると共に官能検査を行い，発酵米の評価から優良「マーチャ」を選択した。次に，この優良「マーチャ」を用いて，1 kgの米からネパールの伝統的方法により「ジャン」を製造し，pH，酸度，還元糖およびアルコールを測定した。

### ③微生物の分離

微生物の分離には，YM培地，YM-miso培地，PDA培地，Briggs培地，Briggs-miso培地を用い，発酵米および収集した試料から目的とする酵母，耐塩性酵母，糸状菌，好塩性乳酸菌を分離した。

## 3. 成果

### 1) 試料の収集

米製の「マーチャ」7点，シコクビエ製の「マーチャ」1点，米製の「モナ」1点，小麦製の「モナ」1点，「マーチャ」の原料である米1点，米粉1点，シコクビエ1点，味噌3点，漬物2点，チーズ1点，半乾燥果物1点の計20点を収集した。

### 2) 発酵食品の調査

#### ①麴の種類

ネパールには麴とそれを用いる発酵酒が存在する。吉田<sup>3)</sup>は，東アジアの酒のスターター（起発酵剤）の分類を試み，基本的スターターとして唾液，穀芽，菌類の3種類に分類し，菌類スターターはさらに，植物スターター，酒かすスターター，穀物スターター，孢子スターターに分類・整理している。このうち，穀物スターターは東アジアに最も多いスターターで，散麴と餅麴に分類され，この散麴と餅麴を吉田<sup>3)</sup>は，粒スターターと団子スターターとよび，この穀物スターターの中では，団子スターターがアジアでは圧倒的に多く，団子スターターは，さらに加熱，混合，生の3種類に分けられ，この内生団子スターターが最も多いという。

ネパールの麴は一般に「マーチャ(Murcha)」と呼ばれている。ネパールの麴には，「モナ(Mona)」とよぶ散麴（ばらこうじ）と，「マナップ(Manapu)」とよぶ餅麴があり，一般にネパールで「マーチャ」と言えば，このうち餅麴タイプをさす。ネパールの餅麴は，その形状・製法から，吉田<sup>3)</sup>の分類では，アジアで最も多いタイプとされる生団子スターターにあたるであろう。

#### ②ネパールの餅麴「マーチャ」の製造法

ルプ地区はネパールの首都カトマンズ市の近郊にある集落である。この地区内には約50軒の製造業者があり，カトマンズ盆地内に麴を提供している。このうちの2軒の業者の製造法を以下に記す（図2）。「マーチャ」にはシコクビエを原料とするものと米を原料とするものがあり，カトマンズ盆地のこのマーチャの原料は米である。この地区内には米の製粉所があり，マーチャ製造業者に米粉を提供している。米はあらかじめ浸漬をしてから製粉する。

マーチャ製造業者は，購入した米粉40kgに，シダ類の葉の乾燥物5～200gと，前回つくったマーチャ4～10個粉碎しながら加える。次に水を加え，じゅうぶんに練る。これを団子状に丸めたあと，手のひらでつぶし，「丸め餅」状にする。屋根裏部屋の床に稲わらを敷き，この上にこの「丸め餅」を並べる。並べ終わったら上にまた稲わらを敷く。夏期5日間，冬期7～10日間程度発酵させる。発酵中はこの「丸め餅」が熱く感じられるので，熱が感じられなくなれば，発酵は終了とする。発酵後は，庭

のむしろの上で天日乾燥する。乾燥後、表面をブラッシングし、外見を良くして出荷する。

米の粉（浸漬して製粉するので水分を含んでいる）40kgから約1,600個のマーチャ（約30-35kg）ができる。筆者の訪れたマーチャ製造業者は1日に米の粉40kgを処理する。製品マーチャ1個は1ルピー（約5円）である。

一方、ポカラ市（カトマンズ市の西北約200kmにある都市）の近くのダンプス地区では、シコクビエ製のマーチャを入手し、この製法を聞き取ることができた。まずシコクビエを粉碎し、前回製造したシコクビエ製のマーチャと適量の水を加え、練って、団子状にする。わらの上に並べ、またその上にわらを敷く。3日間ほど発酵させた後乾燥させる。乾燥法は天日乾燥と火力乾燥の2種類の方法があり、火力乾燥の方が品質は良好だそうである。

米製とシコクビエ製のマーチャの製造法は、原料が異なるだけでほぼ同じであった。

### ③ネパールの散麴「モナ」の製造法

ネパールには散麴もある。カトマンズ盆地の散麴「モナ」の原料には、米もしくは小麦が用いられている。作り方は、米（小麦）を洗浄、浸漬後こしきにて蒸す。蒸し米をむしろの上に広げ、その上にまたわらやむしろでおおう。約1週間で緑色の胞子のカビが表面をおおう。次に天日で4-5日間乾燥して「モナ」になる。

この作り方は、日本の塩辛納豆である大福寺の浜納豆<sup>4)</sup>の大豆麴の作り方に良く似ている。大福寺でも種麴は用いず、むしろを製麴時に使う<sup>4)</sup>。

乾燥されたモナはわずかに緑色を帯びた褐色を呈している。胞子の色が緑色から *Aspergillus* 属の菌と推定され、日本の麴とほぼ同じタイプの散麴であることは興味深い。

### ④「ジャン」の製造試験

収集した4種の「マーチャ」を用いて蒸米を発酵させ、発酵米を調製した結果、発酵米には1%の酸度（乳酸として）、15-20%の還元糖、3-4%のアルコールが含まれていた。これは、アミラーゼによる加水分解反応と同時に乳酸菌による乳酸発酵と酵母によるアルコール発酵が同時に起きていることを示唆している。官能検査の結果から、ルプ地区より収集した米製のNo.2の「マーチャ」から調製した「発酵米」が最も香味が優れていることがわかった。

次に、このNo.2の「マーチャ」を用いて「ジャン」を製造し、分析した結果、「ジャン」には0.7%の乳酸と10-11%の還元糖、3.8%（4.7%, v/v）のアルコールが含まれており、中央食品研究所の職員による官能評価も好評であった。

## 3) 微生物の分離・収集

### ①糸状菌

ネパールの麴から微生物を分離した結果、*Rhizopus* 系の糸状菌は、餅麴タイプの「マーチャ」から $10^5 \sim 10^7$ /g、散麴タイプの「米モナ」から $10^6$ /g、「麦モナ」から $7 \times 10^5$ /g 検出された（表4）。また、緑色の分生胞子を持つ *Aspergillus* 属の糸状菌は、「米モナ」から $4 \times 10^7$ /g、「麦モナ」から $4 \times 10^5$ /g 検出された。

これら分離された糸状菌の中から、「マーチャ」からは2株の、「モナ」からは7株の *Rhizopus* 系の糸状菌と、「モナ」から分離された8株の *Aspergillus* 属の株を選び、計17株の糸状菌についての同

定を現在行っている。東南アジアや南西アジアで緑色の *Aspergillus* を用いる発酵食品は珍しいので、引き続き *Aspergillus* 属の 8 株についての特性の調査を行う予定である。

## ②酵母

4 種の「マーチャ」から調製した発酵米 4 点から分離し持ち帰った酵母 28 株は、さらに純粋分離を行い、12 株に整理統合した。「マーチャ」より帰国後酵母の分離を行い更に 4 株を分離した。現在計 16 株について同定を行っている。

また、耐塩性醸造用酵母を取得するため、収集したネパールの味噌より帰国後、耐塩性酵母の分離を行った。その結果、耐塩性酵母 5 株が分離されたが、全て産膜性の酵母であり、醸造用の酵母である *Zygosaccharomyces rouxii* や *Candida etchellsii*, *Candida versatilis* は分離されなかった。また、分離した耐塩性酵母のキラー活性を調べたが、活性を有する酵母はなかった。

## ③乳酸菌

醸造用耐塩性乳酸菌を分離するため、持ち帰ったネパールの味噌、漬物、「マーチャ」より乳酸菌を分離し、15 株を得た。しかしながら、特性を試験した結果、15 株とも醸造用の有用耐塩性乳酸菌 *Pediococcus halophilis* ではなかった。

## 4. 所感

抗生物質生産菌の探索収集の時代を経て昨今のバイオテクノロジーの時代を迎え、微生物も貴重な資源とみなし、これを保護しようとする動きはますます高まってきている。このような状況下で微生物特に応用微生物分野の微生物—例えば発酵食品関連の微生物—についてはその国からの持ち出しはなかなか困難になりつつあり、土壌もその持ち出しを禁止しているところが多い。

このような情勢下で、日本側単独で日本の一方的な都合により国外で有用菌の調査・探索・収集を遂行することは、その国の資源ナショナリズムの反発にあい、困難である。国外特に発展途上国において微生物等の遺伝資源を探索し確保しようとするれば、相手国側に対する技術協力と技術転移をベースにした共同研究が必要条件となるであろう。

今回の出張では、ネパール国農務省 CFRL には大変お世話になった。多大な便宜を供与していただくと共に、収集した試料と菌株の国外持ち出しも快く承して下さった。これは、この研究所と食総研が長年の国連大学等を通じた技術協力の関係があったからだと思う。国連大学の研修生として過去に食総研に留学した経験ある人たちが、この CFRL の所長と部長という大変重要な研究所の 2 つのポストに座っていたことが、今回の調査・研究を順調に遂行できた大きな要因であろう。

所長の T. カルキ博士の専門は応用微生物・発酵であり、ネパールの発酵食品特に漬物に対して造詣が深く、食総研で研修が終了した後東京農業大学において博士号を取得した人である。現在、同博士は「マーチャ」について、その品質評価法の確立と有用微生物の分離を研究課題として取りあげており、優れた発酵技術を持つ日本との共同研究・技術協力を熱望された。当方の出張目的と有用微生物の分離という点で一致したため、共同で「マーチャ」の品質評価法の確立と優良「マーチャ」からの有用微生物の分離を行うこととした。国外からの遺伝資源の探索と確保という仕事には微妙な問題を含むため、その遂行にはどうしても共同研究が必要と考えたからである。

上記の試験・研究は、CFRLの微生物研究室で行った。ここの施設はあまり整っておらず、また年間の研究費も貧弱なものであるらしい。このため、ピペット等の必要器具類の購入に現地活動費は大変ありがたいものであったし、また帰国の際には購入したガラス器具類は残してきたので、CFRL側からも感謝された。

最後に、種々の便宜とご配慮をいただいた在ネパール日本大使館、計画の策定ならびに事務処理に当たり種々ご指導およびご配慮をいただいた技術会議事務局連絡調整課、農業生物資源研究所、食品総合研究所の関係各位に心より感謝申し上げる。

#### 参考文献

- 1) 中尾佐助：“栽培植物と農耕の起源”，岩波書店，1966，p.59-75
- 2) 佐々木高明：“世界の食べ物週刊朝日百科”，第5巻(50号)，中尾佐助編，朝日新聞社，1981，p.276-280
- 3) 吉田集而：醸協，80，780 (1985)
- 4) 伊藤 寛：醸協，71，173 (1976)

## 5. 資料

表1. 発酵食品の調査・微生物の分離の日程表 (ネパール国, 1988, 10. 18~11. 11)

年月日 (曜)	旅 程	行 動 内 容
63. 10. 18(火)	農士試→成田→TG641→バンコク	
10. 19(水)	バンコク→TG311→カトマンズ	日本大使館書記長官と日程打ち合わせ 農務省中央食品研究所 (CFRL), 挨拶および 今回の調査についての説明と協力依頼
10. 20(木)	カトマンズ市内を車で移動	試資料の収集とマーケット調査 CFRL, 打ち合わせ
10. 21(金)	カトマンズ市内を移動	自家醸造酒の調査 CFRL, 国内調査旅行の打ち合わせ
10. 22(土)	カトマンズ→ポカラ	移動
10. 23(日)	ポカラ→サンクヘル→ダンプス ダンプス→サンクヘル→ポカラ	自家醸造酒および「マーチャ」の調査
10. 24(月)	ポカラ→カトマンズ	移動
10. 25(火)	カトマンズ	CFRL, 実験の打ち合わせ 実験器具類, 試薬類の下調べ
10. 26(水)	カトマンズ→車→ルブ ルブ→車→カトマンズ	「マーチャ」製造所調査 CFRL, 「マーチャ」より発酵米「ジャー ン」製造実験の打ち合わせおよび 実験器具類の調達
10. 27(木)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の製造実験
10. 28(金)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の製造実験
10. 29(土)	カトマンズ→車→ルブ ルブ→車→カトマンズ	「マーチャ」製造所, 製造工程の観察と記録
10. 30(日)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の酸度の分析
10. 31(月)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の糖の分析
11. 1(火)	カトマンズ	CFRL, 発酵米のアルコールの分析
11. 2(水)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の微生物の分離
11. 3(木)	カトマンズ	CFRL, 発酵米の微生物の分離
11. 4(金)	カトマンズ	CFRL, 「ジャーン」の製造実験
11. 5(土)	カトマンズ→車→ベネパ ベネパ→車→カトマンズ	試料の収集・マーケット調査
11. 6(日)	カトマンズ	CFRL, 微生物の分離
11. 7(月)	カトマンズ市内を車で移動	味噌, 醤油, 焼酎製造所の調査
11. 8(火)	カトマンズ	日本大使館, 活動報告 CFRL, 微生物の移し換えと結果の取りま とめ
11. 9(水)	カトマンズ市内を車で移動	試料の収集・マーケット調査 CFRL, 試料の整理, 結果と今後につい ての討論と打ち合わせ
11. 10(木)	カトマンズ→TG312→バンコク	
11. 1(金)	バンコク→TG640→成田 成田→食総研	輸入検疫受検

注) 土曜日: 休日

日曜日: 平日

表 2. 協力機関名

協 力 機 関 名	所 在 地
ネパール国農務省中央食品研究所	カトマンズ

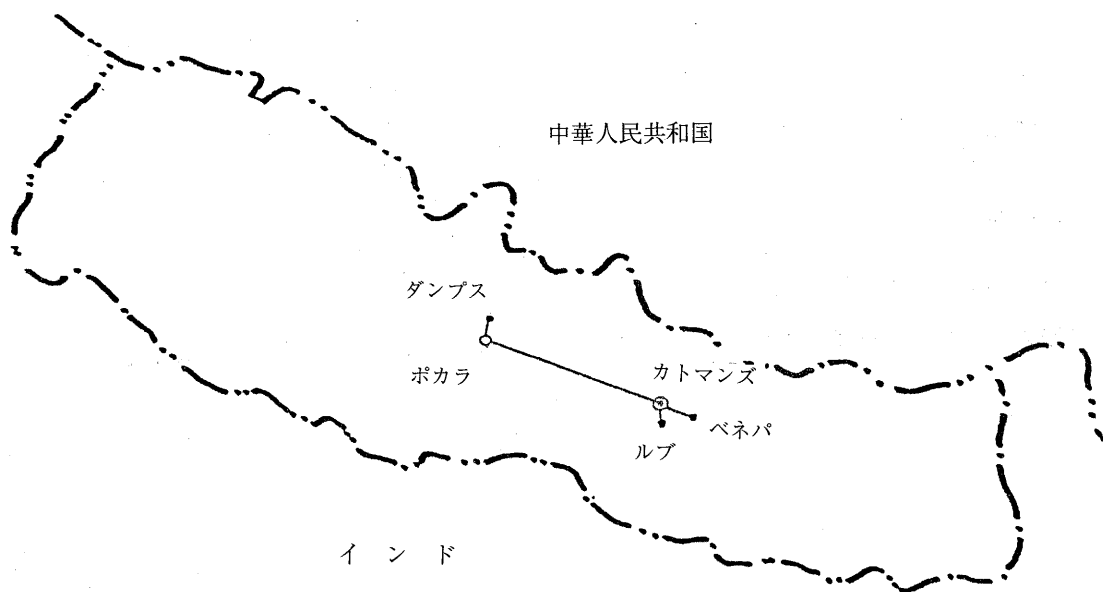


図 1 ネパール国試料収集地

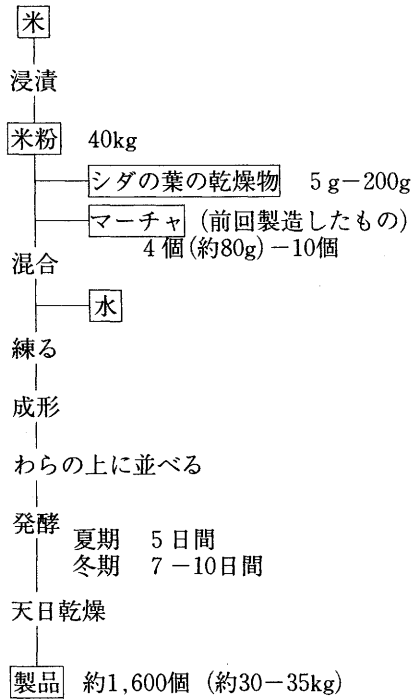


図2 ネパールの餅麴「マーチャ」の製造法

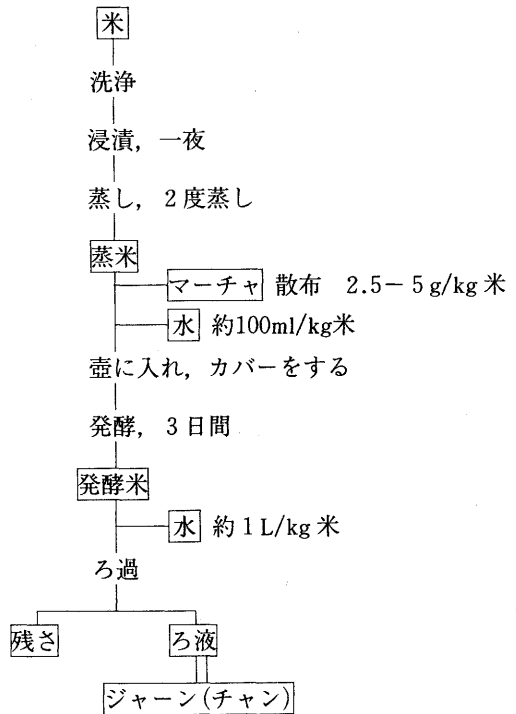


図3 「ジャーン」の製造法



表3. 収集したネパールの麩

試料	収集地	主原料	重さ*(g/個)	直径または横×縦*(cm)	厚さ*(cm)	
マーチャ (餅麩)	M 1	ダンプス	シコクピエ	8	4×2.5	1.8
	M 2	ルブ	米	12	5	1.0
	M 3	ルブ	米	21	5.5	1.2
	M 4	ルブ	米	21	4.5	1.5
	M 5	ルブ	米	17	5.5	1.2
	M 6	ルブ	米	9	4.2	1.2
	M 7	バネパ	米	7	4	0.8
モナ (散麩)	R K	ルブ	米	—	—	—
	W K	ルブ	小麦	—	—	—

\* : 2 ~ 3 個の平均値

表4. ネパールの麩の微生物相

(生菌数/g)

試料	糸状菌*			酵母**		乳酸菌***
	糸状菌総数	<i>Aspergillus</i> 属	その他 <i>Rhizopus</i> 等	酵母総数	<i>Saccharomycopsis</i> 属	
M 1	$1.3 \times 10^7$	—	$1.3 \times 10^7$	$1.6 \times 10^6$	—	$1 \times 10^4$
M 2	$3.0 \times 10^7$	—	$3.0 \times 10^7$	$2.6 \times 10^8$	$2.1 \times 10^7$	$6.3 \times 10^7$
M 3	$4.6 \times 10^7$	—	$4.6 \times 10^7$	$1.1 \times 10^8$	$9.0 \times 10^7$	$1.3 \times 10^8$
M 4	$1.9 \times 10^6$	—	$1.9 \times 10^7$	$3.6 \times 10^8$	$1.8 \times 10^8$	$3.1 \times 10^8$
M 5	$6.0 \times 10^5$	—	$6.0 \times 10^5$	$1.5 \times 10^8$	$3.0 \times 10^7$	$3.4 \times 10^7$
M 6	$1.8 \times 10^7$	—	$1.8 \times 10^7$	$5.7 \times 10^7$	$2.3 \times 10^7$	$6.0 \times 10^7$
M 7	$3.8 \times 10^6$	—	$3.8 \times 10^6$	$3.0 \times 10^8$	$9.0 \times 10^7$	$1.4 \times 10^8$
R K	$3.7 \times 10^7$	$3.5 \times 10^7$	$1.5 \times 10^6$	—	—	$1.1 \times 10^5$
W K	$1.1 \times 10^6$	$4.0 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$	—	—	$1.5 \times 10^5$

\* : PDA 培地+クロランフェニコール(100ppm)+ジクロラン(5 ppm)

\*\* : YM 培地+クロランフェニコール(100ppm)+プロピオン酸ナトリウム(0.2%)

\*\*\* : Briggs 培地+炭酸カルシウム(1%) + BCP(60ppm)

— : 検出せず ( $< 3 \times 10^3$ )



表5. 海外微生物遺伝資源の現地収集実績 (63年度調査分)

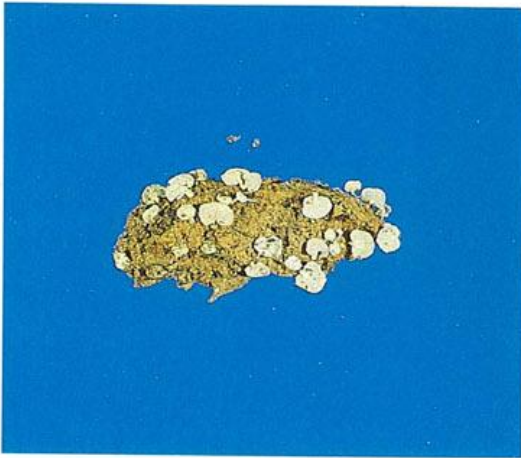
微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
300	03	20	101A	<i>Saccharomyces</i> sp.	発 酵 米
〃	〃	〃	102B	〃	〃
〃	〃	〃	103A	〃	〃
〃	〃	〃	103B	〃	〃
〃	〃	〃	103C	〃	〃
〃	〃	〃	103D	〃	〃
〃	〃	〃	104A	〃	〃
〃	〃	〃	104B	〃	〃
〃	〃	〃	104D	〃	〃
〃	〃	〃	104G	〃	〃
〃	〃	〃	106A	〃	〃
〃	〃	〃	108-2	〃	〃
〃	〃	〃	M2Y-1	〃	マ ー チ ャ
〃	〃	〃	M2Y-2	〃	〃
〃	〃	〃	M2Y-3	〃	〃
〃	〃	〃	M3Y-4	〃	〃
〃	04	〃	PKG-1	<i>Aspergillus</i> sp.	米 モ ナ
〃	〃	〃	PKG-2	〃	〃
〃	〃	〃	PKG-3	〃	〃
〃	〃	〃	PKG-4	〃	〃
〃	〃	〃	PKG-5	〃	〃
〃	〃	〃	WKG-1	〃	小 麦 モ ナ
〃	〃	〃	WKG-2	〃	〃
〃	〃	〃	WKG-3	〃	〃
〃	〃	〃	RKB-1	<i>Rhizopus</i> sp.	米 モ ナ
〃	〃	〃	RKB-2	〃	〃
〃	〃	〃	RKB-3	〃	〃
〃	〃	〃	WKB-1	〃	小 麦 モ ナ
〃	〃	〃	WKB-2	〃	〃
〃	〃	〃	WKB-3	〃	〃

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988. 11	カトマンズ	官能評価値が最高点の発酵米からの分離
〃	〃	〃
〃	〃	YM培地上でアルコール臭
〃	〃	YM培地上で果実臭
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	YM培地上でアルコール臭
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	ルブ	帰国後の分離実験による
〃	〃	〃
1988. 10	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃
〃	〃	〃

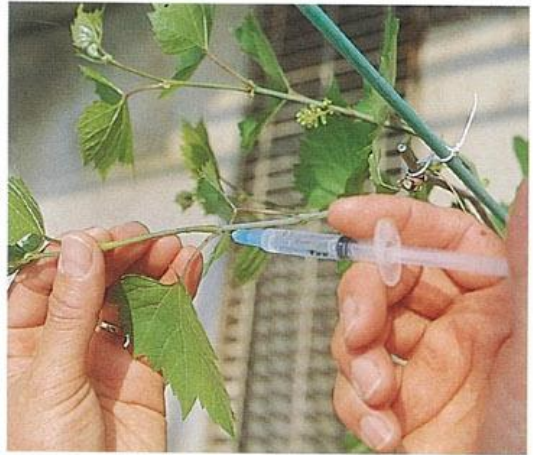
微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
300	04	20	WKB-4	<i>Rhizopus</i> sp.	小麦モナ
〃	〃	〃	M2-1	〃	マーチャ
〃	〃	〃	M2-2	〃	〃

収集年月	収 集 場 所	特 記 事 項
1988. 10	ルブ	帰国後の分離実験による
〃	〃	〃
〃	〃	〃

## 微生物の探索収集プロフィール



小笠原諸島・母島の桑木山にて収集した  
ヒナノウチワ



病原性確認のためのブドウ新梢（巨峰）  
への単針付傷接種



ネパールの餅麴「マーチャ」の製造風景。  
練った米粉を整形し、発酵させる。



ネパール国中央食品研究所の協力を得て、  
収集した「マーチャ」より発酵米を調整  
し、菌を分離する。