

## ヤシ酒と関与微生物について

小崎道雄・飯野久和・\*Priscilla C. SANCHEZ

On the Palm Wine and Its Related Microorganisms

MICHIO KOZAKI, HISAKAZU IINO AND \*PRISCILLA C. SANCHEZ

In this study, we examined chemical composition of palm sap and palm wine, and investigated the microorganisms concerned to palm wine (Tuba) fermentation in the Philippines.

Palm sap oozed about 50~60ml per one hour, and after fermentation converted 4~5% (v/v) ethanol from sap sugars.

Yeasts of palm wine fermentation, if the mangrove bark was not added in oozed sap, were *Saccharomyces chevalieri*, *S. bailii* var. *bailii* and *Kloeckera apiculata* on the contrary, if mangrove bark was added non polyphenol tolerance yeast *Kloeckera apiculata* could not growth and carried out ethanol fermentation by *S. chevalieri* and *S. bailii*.

3,300種におよぶ単子葉のヤシ科植物は欧州の北緯47°とニュージーランドの南緯43°を限界として、熱帯から亜熱帯および温帯の一部にわたり生育し<sup>1)</sup>,古くから人と深い係わり合いを持ってきた。その生物的起源は不明確であるが、おそらくメラネシアに原産し紀元前にはアジア、アフリカに拡がり、東南アジアの海岸にはその時代に伝播したと考えられている<sup>2)</sup>。

ヤシの用途は、ヤシ酒、ヤシ糖、デンプン、油脂、繊維材料、建築材、燃料など少なくとも500を超える程多く、ヤシ圏の人にとっては掛け替えのない重要な植物である。ヤシ酒は中でも利用度の高い一つであり、主にココヤシ (*Cocos nucifera*), 大王ヤシ (*Roystonea regia*), パルメヤシ (*Borassus flabellifera*), サトウヤシ (*Arenga pinnata*) およびニッパヤシ (*Nypa fruticans*) から作られる<sup>3) 7)</sup>。なかでもココヤシはヤシ酒やヤシ糖製造用として、熱帯圏であま

ねく栽培されている。

ヤシ酒の製法は大王ヤシのほかは大差がなく、フィリピンでは幹の上部に束生した葉の基部から生じた花芽を、麻紐などで固く結び下向きとする。花芽を薄く切り浸出する樹液を竹筒にうける。竹筒は8~10時間毎に換えるが、軽く水洗するだけであるから微生物の多くは竹筒に付着したまま残る。従って発酵に関与する微生物の多くは、次の発酵の種として移行すると考えられる。しかしながら、自然発酵であるためしばしば酸敗をおこし失敗する。その防止に僅かのマングローブ樹皮 (筒当たり約2g) を加え酸敗を防止する。従って、マングローブ樹皮添加ヤシ酒 (Tuba) は淡い茶褐色を呈し、渋みをもつことになる (Phot. 1)。一方、樹皮無添加

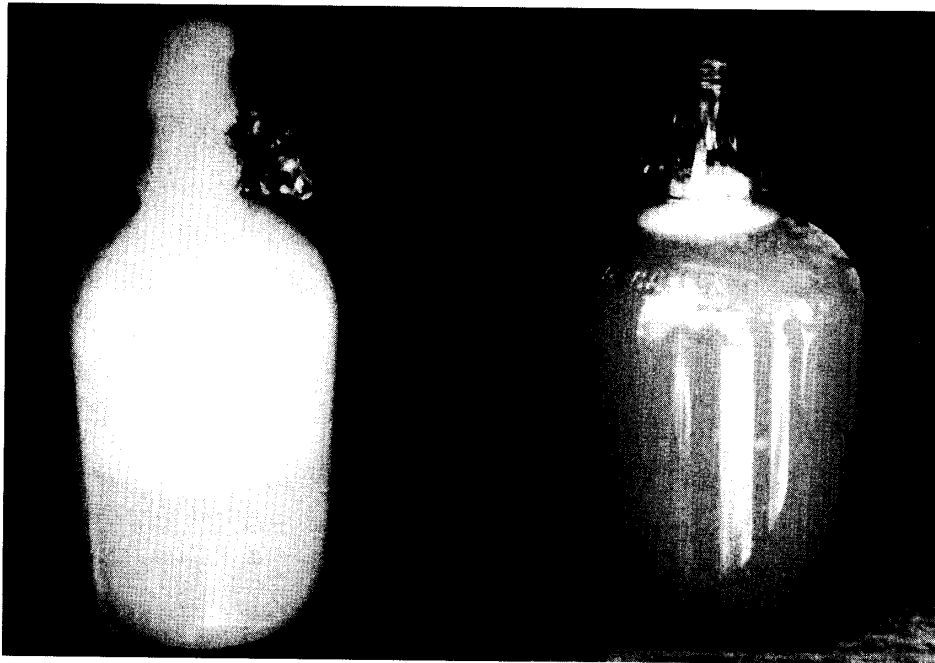
\* フィリピン大学ロスバニョス校食品工学科

ヤシ酒は乳白色で、酸敗しないものは甘く爽やかであり、フレッシュ ヤシ酒 (Fresh Tuba) とも呼ばれる<sup>4) 5) 6)</sup>。ヤシ酒の製法を模式図で示すと下のFig. 1の通りであるが、ヤシ酒はそのまま飲用とするか、市場または道端の掛け小屋などで店頭販売される。

直接飲用する以外、ヤシ酒の家内工業的な製法は発酵後のヤシ酒を竹筒から20ℓ容位の支那式壺に集めて加糖し、5～6日間主発酵させた後、1ヶ月から時には1～2年間熟成させ、ろ

過後飲用または販売する。2から3週間前の熟成品はバハル (Bahal)、1ヶ月以上はバハリナ (Bahalina) と別称される。しかし、多くは主発酵終了後直ちに蒸留し、30～40%アルコール濃度の蒸留酒ランバノフ (Lanbanog, フィリピン)、(Arrack, インドネシア・マレーシア) として市販される。本品は透明なアルコール飲料で淡泊な味であるため干しブドウなどの干果を加え味付けする。

ヤシの樹液やヤシ酒の成分分析は既に100年近



Phot. 1. Fresh Tuba and Tuba

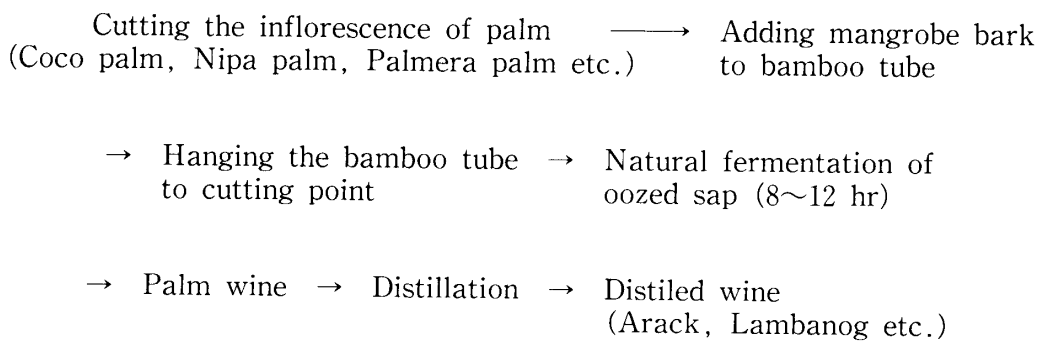


Fig. 1 Procedure of Palm Wine

い以前BROWINGら<sup>9)</sup>により報告され、以後OKAFORら<sup>10)</sup>、FAPARUSIら<sup>11)</sup>などにより発酵中におけるアミノ酸の経時変化、ビタミン含有量および栄養学的の検討など主にアフリカまたは南および東南アジア諸国の研究者により進められてきた。

また、発酵に関与する微生物については、CAMPBELLPLATTの成書<sup>12)</sup>およびSTEINKRAUSの編書<sup>13)</sup>に要約されているが、BROWINGら<sup>9)</sup>およびDOMODERANら<sup>14)</sup>はヤシ酒の発酵は*Saccharomyces*属、*Monilia*属の酵母により進められ、マングローブ樹皮が発酵を助ける現象を既に見ている。このマングローブの効果はセイロンのココナツ研究所報告でも認めている<sup>15)</sup>。しかし、その証明はなく、1978年に西山隆造ら<sup>16)</sup>によりはじめて乳酸菌、酢酸菌などへのヤシ酒の発酵阻害はマングローブ樹皮の10種におよぶポリフェノールであることを証明した。

さらに、ヤシ酒発酵に関する微生物は*Zymomonas*および*Micrococcus*であるとしたOKAFARら<sup>10)</sup>、*Saccharomyces*属とするTHEIVENDIRARAJAH<sup>15)</sup>があり、またFAPARUSI<sup>16)</sup>は経時的にヤシ酒中の微生物動態を調べ、*Saccharomyces cerevisiae*および*Schizosaccharomyces pombe*であると報告した。一方、著者らはフィリピン、ラグナ州のヤシ酒の微生物について、その多くはポリフェノール耐性をもつ*S. chevaleili*であることも認め報告した。

しかし、これら酵母の多くは属レベルの同定であり、分離株の諸性質についても明らかでないため、これらを明確にするのを目的にさらに研究を重ねた。

## 実験方法

**ヤシ酒の採取方法** 殺菌水で十分洗浄した筒

型プラスチック容器をココヤシの上部に咲く花軸の新しい切り口に下げ、昆虫類の進入防止のため容器の口をふさぎ4時間および8時間後のヤシ酒を採取した。なお、容器は採取ごとに新しい殺菌水洗浄容器に取り替えた。

**ヤシ酒の採取地** 試料は全てフィリピン国内のヤシ酒を家内工業レベルで営む各地の製造所から採取した。以下にその採取地の町村を示した。

中部ルソン島：ロスバニョス町、バイアン村、サンハン村、アラミノス町、リングエン町

レイテ島：タクロバン市、ポロ町

ボホール島：タグビララン市、パングラオ村

**ヤシ樹液およびヤシ酒の成分分析** 無菌的に採取したヤシ樹液およびヤシ酒を、素早く持ち帰り分析用試料とした。

全糖、粗タンパク質、粗脂肪は国税庁分析法<sup>18)</sup>に従った。

アルコールは常法に従い試料を蒸留し、0.1N過マンガン酸カリウムを用いた酸化還元滴定より求め、総酸は中和滴定により乳酸として算出した。

**微生物の分離および同定** 試料から平板法を繰り返し純化した分離株について、KREGERVAN RIJの方法<sup>19)</sup>に従い同定を行った。また、試料中の酵母細胞数は希釈平板法により計測した。

## 結果および考察

**成分分析** フィリピンに限らず熱帯諸国ではココヤシの育成が盛んであり、栽培地ではコブラ、ヤシ糖とともにヤシ酒やその蒸留酒が製造されている。ヤシ酒はココヤシ花芽の切截部から浸出する樹液を発酵させて製造するため樹液そのものが原料となる。原料の樹液成分は

Table 1 Chemical Composition of Palm Sap Collected from Luzon Island

Palm	Collected place	Moisture	Crude protein	Reducing sugar	Total sugar	Crude fat	Oozed sap (ml/1hr)
coconut	Los Banos, Laguna	86.2	0.2	0.8	12.4	0.02	56.7
coconut	Byan, Laguna	84.5	0.2	0.7	11.8	0.02	57.0
coconut	Rosaris, Batangas	84.2	0.1	1.0	13.4	0.02	62.4
nipa	Lingraen, Pangasinan	87.0	0.1	0.8	11.5	—	60.0
nipa	Carlos, Pangasinan	—	—	—	—	—	—
coconut <sup>1</sup>	—	80.3~84.8	0.2~0.3	—	12.3~17.4	—	50.5~66.5
coconut <sup>2</sup>	—	83.1	0.3	1.4	16.6	—	60.0

1. BROWING K.C., & SYMONS (1916)

2. FANDIALANM (1978)

Table 2 Chemical Composition of Palm Wine (Tuba) Collected from Luzon Island

Palm	Collected place	Fermentation hour	Mangrove bark	Total sugar	Crude protein	Crude fat	Acidity (lactic acid)	Alcohol (v/v)
coconut	Los Banos, Laguna	4	—	10.2	0.3	0.02	0.2	0.2
		8	added	8.0	0.3	0.02	0.1	2.5
nipa	Lingraen, Pangasinan	4	—	6.2	—	—	0.5	4.0
		8	added	5.6	—	—	0.2	4.8
coconut <sup>1</sup>	—	4	—	6.5	—	—	0.2	2.8
		8	—	5.0	0.16	—	0.4	4.2
coconut <sup>1</sup>	—	8	added	1.7	0.20	0.04	0.7	5.0
coconut <sup>2</sup>	—	8	—	—	—	—	0.3~0.6	2.7~5.8

1. LEONG (1953)

2. BROWING (1916)

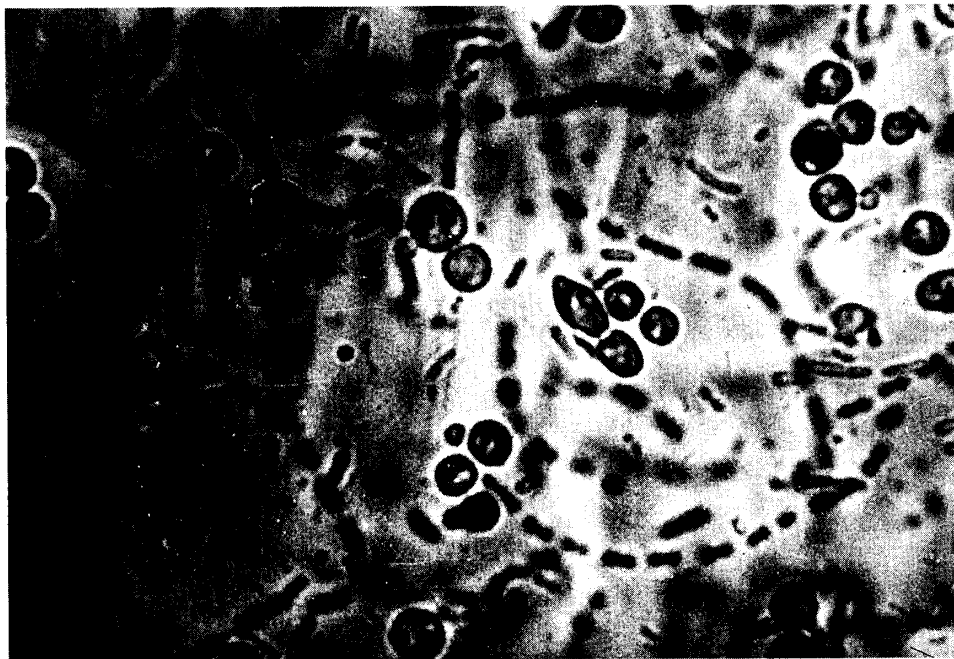
BROWING<sup>9)</sup>以来研究者により調査されているが、著者らもロスバニョスおよびその近郊のバイヤン村、サンハン村などから可能な限り試料を収集し調べた。それらの成分分析結果を表1に示したが、BROWING<sup>9)</sup>の結果と同様に全糖質に対する還元糖量が極めて少ないものであった。これはココヤシの糖質の多くがマンナンやガラクトマンナンなどの高分子多糖体であることに起因するものと考えられた。また、糖質に比べ粗タンパク質や粗脂肪は少なかった。OKAFOR<sup>10)</sup>らは、ココヤシの栽培環境により樹液成分および浸出量も異なると報告していることから、他地域の樹液成分の分析値が本報とは異なることは十分に予想されることであった。

切り落とした花芽部からの浸出液量は1時間に約50から60mlであるため、8時間下げた採取筒の中には400から480mlの樹液が貯留され、自然発酵を受けていた。また、花芽は浸出量を維持するため1日に1回薄く切断されるが、切断を怠った場合浸出量が低下することが知られている。

4および8時間後に採取したヤシ酒の成分を表2に示した。採取筒中には常時樹液が滴下されているが、その採取筒中の酵母数の増加およびアルコール濃度の増加が確認されたことから、その含有糖質は野生酵母により逐次アルコールに変換され、8時間後にはアルコール濃度5.0%とビールと同等のアルコール発酵が行われていることが明らかとなった。また、このようなマングローブ樹皮を添加しない発酵樹液中は、Phot.2のように酵母と細菌ともにきわめて多い。

一方、マングローブ樹皮末を添加したものでは生酸菌の増殖が阻止されるためか、4時間後であっても無添加にくらべアルコール濃度に差がみられた。西山ら<sup>10)</sup>によればマングローブに含有されるロイコアントシアンやカテキンなどのポリフェノールがヤシ酒製造中の生酸菌の生育阻止に関与しているとの報告をしている。

**分離酵母の諸性質** ルソン島およびレイテ島などのヤシ酒の酵母を分離し、それらの培養学的性質から代表菌株として数十株を選択し、



Phot. 2. Microorganisms in Fresh Tuba

Table 3 Morphological and Physiological Properties of Isolated Yeasts from Palm Wine

Strain No.	Shape & Size	Colony Color & Mycelium formation	Ascospore Formation	Splitting of Arbutin	Assimilation of Nitrate
LBB 8	ellipsoidal	cream	3~4 spheroid	absent	absent
	3.4~5.2×	branched			
	4.0~7.0	pseudomycelia			
LBB 12	ellipsoidal	cream	2~4 spheroid	absent	absent
	occasionally cylindrical	creamish-grey (after 1 month)			
	3.4~6.0× 4.8~8.6				
LBF 1	lemon-shap sometime	creamy or creamish yellow none pseudomycelia	absent	absent	absent
	elongate				
	1.5~4.5× 4.8~8.6				
LYB 5	ellipsoidal	creamish white	conjugation	absent	absent
	sometime cylindrical	branched pseudomycelia rudimentary			
	3.0~4.8× 4.4~8.0				

**Table 4** Fermentation and Assimilation of Carbon Compounds on Isolated Stains from Palm Wine

Carbon Compounds	LBB 8	LBB 12	LBF 1	LYB 5
<b>Fermentation</b>				
glucose	+	+	+	+
galactose	+	+ or -	-	±
sucrose	+	+ or -	-	±
maltose	-	-	-	-
mannose	±	±	-	-
cellobiose	-	-	-	-
lactose	-	-	-	-
raffinose	1/3	1/3	-	-
soluble starch	-	-	-	-
<b>Assimilation</b>				
glucose	+	+	+	+
galactose	+	+	-	+
sucrose	+	+	-	+
maltose	±	-	±	-
mannose	+	±	-	+
cellobiose	-	-	-	-
lactose	-	-	-	-
melibiose	-	-	-	-
raffinose	+	+	-	-
ethanol	+	+	-	+
glycerol	±	+	-	+
$\alpha$ -methyl-D-glucoside	±	±	-	-

± : weak or very weak

KREGERVAN RIJ<sup>19)</sup>の方法に従い同定した。表3に代表菌株LBB 8, LBB 12, LBF 1, LYB 5の培養学的性質, および表4に糖の発酵性および資化性試験の結果を示した。

全菌株とも多極出芽で増殖し, LBB 8, LBB 12, LYB 5はともに楕円, まれに円筒に近い形をとるが, LBF 1は典型的なレモン型の細胞で

あった。また, 前者の3株は円形あるいはやや楕円の子嚢胞子が2から4個観察されたが, LYB 5では接合後, 胞子形成が観察された。一方, LBF 1には子嚢胞子の形成が確認されなかった。

LBF 1を除く3菌株とも硝酸塩の資化性がなくグルコースを良く発酵することからSacchar-

Table 5 Viable Yeast Cell-count in Palm Wine Fermentation

Collected Place	Mangrove Barks	Yeast's Species	Yeast's Cell Number	Yeild in Total Cells(%)
Los Banos	-	<i>S. chevalieri</i>	$8.8 \times 10^5$	62
		<i>Kl. apiculata</i>	$5.3 \times 10^5$	38
	+	<i>S. chevalieri</i>	$4.0 \times 10^6$	100
Bauang	-	<i>S. chevalieri</i>	$2.0 \times 10^6$	76
		<i>Kl. apiculata</i>	$6.3 \times 10^5$	24
	+	<i>S. chevalieri</i>		100
Tacloban	+	<i>S. chevalieri</i>	$1.2 \times 10^6$	22
		<i>S. bailii</i>	$3.6 \times 10^6$	66
		<i>S. vini</i> var. <i>vini</i>	$6.5 \times 10^5$	12

*omyces*属と同定された。LBB 8, LBB 12はスクロース, ガラクトースの発酵性から*S. chevalieri*と, LYB 5は*S. bailii* var. *bailii*と同定された。また, LBF 1は無胞子のレモン型酵母であることから*Kloeckera*属であり, 糖の発酵性から*Kl. apiculata*と同定された。これらの分離酵母はマンノースをわずかでも資化し得る能力を有し, ポリフェノール耐性が既知の*Saccharomyces*属よりも優れているという特性を持っていた。

**ヤシ酒の酵母相** マングローブ樹皮粉末を加えないヤシ酒の酵母相は表5に示したように*S. chevalieri*と*Kl. apiculata*により占められているが, その比は76:26で*S. chevalieri*が優占していることから本酵母がヤシ酒の主発酵菌と考えられた。また, マングローブ樹皮添加のヤシ酒からは, *S. chevalieri*のみが分離されたが, これは*Kl. apiculata*にポリフェノール耐性能がないことに起因するものと考えた。

また, レイテ島で採取したマングローブ樹皮添加ヤシ酒の酵母相は表5のように接合酵母である*S. bailii* var. *bailii*が分離株の66%を占め, *S. chevalieri*は22%であった。*S. bailii*もポリフ

ェノール耐性を有することから, この地方のヤシ酒酸敗防止のためマングローブ樹皮を添加しても, 地域によって*S. chevalieri*または*S. bailii*がその主要な発酵酵母となる。この現象に対してはGUILLIERMOND<sup>20)</sup>がアフリカのヤシ酒から, またFAPARUSIら<sup>21)</sup>も同じくヤシ酒から, *S. chevalieri*を見出していることから, *S. chevalieri*こそヤシ酒発酵の主力酵母であろう。しかし, *S. bailii*または*S. vini*あるいはOKAFORらの*Schizosaccharomyces pombe*の存在を否定することは困難であった。

### 要 約

ヤシ酒とヤシ樹液の成分および発酵に関与する微生物について明確にするため行った。樹液成分の糖質は還元糖ではなくマンナンを主とする多糖であり, 浸出樹液量は1時間に50~60mlであり, 発酵後はほぼ4~5%アルコール濃度であった。

ヤシ酒の発酵に関与する酵母は酸化防止のため加えられるマングローブ樹皮が存在しないと, *Saccharomyces chevalieri*, *S. bailii*および



*Kloeckera apiculata*であったが、マングローブ樹皮添加ではポリフェノール耐性のない *Kl. apiculata* は生息できず、殆ど *S. chevalieri* のみ、または *S. bailii* との 2 種の酵母の働きによりアルコール発酵が進むことが判った。

#### 参考文献

- 1) 佐竹利彦：ヤシ科植物の概要 個人出版 (1991)
- 2) 農林省熱帯農業研究センター：熱帯の有用作物, **402** (1975)
- 3) 阿部登：ヤシの生活誌 古今書院, **2** (1989)
- 4) 小崎道雄：フィリピンの発酵食品 食品と容器, **15**, 66 (1974)
- 5) KOZAKI, M.: *J. A. Micotox.*, **2**, 1 (1990)
- 6) 小崎道雄：VESTA, **2**, 22 (1990)
- 7) 蓮尾徹夫：醸協, **78**, 598 (1983)
- 8) 小崎道雄：日食工, **38**, 651 (1991)
- 9) BROWING, K.C. and SYMON, S.C.T.: *J. Soc. Chem. Ind.*, **35**, 1138 (1916)
- 10) CABBELL-PLATT, G.: *Fermented Food of the World*. Butter Worths, 149 (1987)
- 11) STEINKRAUS, K.H.: *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. MARCEL DEKKER INC., 315 (1983)
- 12) COCONUT RESEARCH SCHEME: *Ceylon Ann. Rep.*, 1939 (1940)
- 13) 西山隆造, SANCHEZ, P.C., 小崎道雄：醸工, **56**, 712 (1972)
- 14) OKAFOR, N.: *J. Sci. Food Agric.*, **23**, 1399 (1972)
- 15) THEIVENDIRARAJAH, K. and JEYASEELAN, K.: *Ceylon J. Sci. (Biol. Sci.)*, **13**, 119 (1979)
- 16) FAPARUSI, S.I. and BASSIR, O.: *J. Biol. Appl. Chem.*, **15**, 17 (1972)
- 17) DAMODERAN, M.J.: *Indian Inst. Sci.*, **11**, 63 (1928)
- 18) 村上英也監修：国税庁所定分析法注解 日本醸造協会 (1981)
- 19) 小崎道雄：醸協, **69**, 11 (1974)
- 20) GUILLIERMOND, A.: *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Vegetale Ser.*, **9**, 1 (1914)
- 21) FAPARUSI, S.I. and BASSIR, O.: *Appl. Microbiol.*, **24**, 853 (1972)