

インドネシア固有発酵食品「ダケ」の微生物

小崎道雄, 飯野久和, カプティラハユ・クスワント*¹, 一戸正勝*²

Microorganisms of Indigenous Fermented Food “Dagé” in Indonesia

MICHIO KOZAKI, HISAKAZU IINO, KAPTI RAHAYU KUSWANTO, and MASAKATSU ICHINOE

Dagé is a indigenous fermented cassava press cake in limited area of Central Java Indonesia.

Dr. SAONO and his coworkers studied the employed microorganism of Dagé fermentation, about 20 years ago, and reported this food made chiefly of *Bacillus* sp. like Japanese Natto, but not much is known clearly about microorganisms.

Therefore authors collected Dagé samples from Dagé making farmer factories.

The staple microorganism on Dagé has been settled mold belonged to *Mucor hiemalis*, and lactic acid bacteria in Dagé making was only *Pediococcus pentosaceus*.

前報¹⁾において、インドネシア固有の発酵食品「ダケ」の製法とその背景について報告した。「ダケ」はKO SWAN DJIEN²⁾、および SUSONO SAONOによれば日本の納豆と同様に、*Bacillus subtilis*によりつくられていると記載されている。しかし、「ダケ」製造地の中部ジャワ北岸にあるブレベス (Brebés) 市およびその近郊の村々の試料を調査した限り、SAONO, S.およびKO SWAN DJIENの報告の*Bacillus*ではなく、Mucoralesに属する糸状菌が主要であろうと試料の状態から考えられた。今回再びガジャマダ大学のクスワント博士夫妻の協力を得、調査および関与微生物の同定をするに十分な試料を、ブレベス市および同市の南部に位置する農村から採取した。その結果は、前記2者の報告とは異なり、前回の調査で予測した通り、ダケの発酵に関与する微生物はMucoralesに属する糸状菌であった。すなわち持ち帰った試料から糸状菌をあらため

て分離、同定し、「ダケ」の主要な微生物を決定したので報告する。

実験方法

試料の採取地： 中部ジャワ (インドネシア) の西北部ジャワ海沿岸に開けた港ブレベス市およびタンジャン (Tandjung) 村、ロサリオ (Losario) 村において試料を集めた。后者の2村はともに人口100名位の小村であるが、「ダケ」を製造している農家はそれぞれ2軒存在した。

試料の採取法： ブレベス市および西南に点在する2つの村から、それぞれ1軒ずつを選び、発酵途中および製品、また発酵に使用する「ダケ」専用の餅麴「ダケラギ」(Dagé Ragi) を、ポリエチレンの袋および持参した麦芽寒天培地上に置き、ガジャマダ大学の研究室に持ち帰った。

糸状菌の分離： 麦芽寒天およびポテトデキ

*1 Faculty of Agricultural Technology, Gadjah Mada University (Indonesia)

*2 東京家政大学, 家政学部栄養学科

ストローズ寒天（栄研化学）を用いて平板培養を繰返し糸状菌を分離後、純化した。

細菌の分離： 無菌的に持ち帰った「ダケ」試料を直ちに検鏡した結果多くの細菌細胞を観察できたので、通常の細菌分離に使用されるGYP白亜寒天培地（glucose 20g, yeast ex. 10g, pepton 10g, CaCO₃10g,蒸留水1,000ml, pH 6.0）, グラム陰性菌用としてGY寒天培地を用いた。

分離株の同定

単離した糸状菌は、分離培地およびCzapck dox培地およびPG培地を用い、表現形を中心にMucoralesの分類を記載したPITT, SCHIPPER⁴⁾, SCHIPPER⁵⁾の単行本を参考とした。すなわち菌糸幅、假根の有無、柱軸の大きさや径幅、形態とくに突起の有無、胞子の形、平滑か粗面かおよびサイズ、37℃以上の高温域での発育、厚膜胞子の形成などである。

細菌の同定： *Bacillus*属についてはBergeyの成書⁶⁾に準拠した。また乳酸菌の同定は主に小崎らの乳酸菌マニュアル⁷⁾およびBergeyの成書⁶⁾にしたがって、グラム染色、カタラーゼの有無、生成乳酸の旋光性などを形態と共に調べた。

「ダケ」製品の成分： 一般食品分析法にしたがいがい、全糖、粗蛋白質などをしらべた。

実験結果および考察

ダケの化学成分： 「ダケ」製品は、可食適の

期間が短く、数日間に限られている。製造は2日間であるが、3日後には板状製品の周囲は、糸状菌の菌糸に被われ真黒に変ずる。したがって化学分析は、新鮮な製品についておこなった。

結果はTable 1に示したが、原料のキヤツサバ粕に較べて、成品ダケは水分量が6倍ほどに増加していた。十分に原料を蒸し、ラギ撒布後も、湿潤な室で製造されているからであろう。しかし全糖は3分の1に減少しているだけであったから、試料に残存していた物質が糖に分解されたものと考えられる。この分析値から「ダケ」の栄養価は低いと想定された。しかし「ダケ」製品の価格はきわめて安価であることから、零細な収入の人達が好んで摂る理由になっているようであった。

ブレベス市および近郊農村の「ダケ」製造所からの試料は、テンペのように板状であるが、糸状菌の胞子によって、黒色がまだらになってみえた。また種として使用する「ダケラギ」(Dagé Ragi)は胞子着生が多く黒点によって被われていた。それらを試料として、PG培地およびCzapck dox培地上に平板した結果、全面をおお、う多くの黒色の胞子嚢を有する糸状菌と若干の酵母が分離された。

分離酵母： 酵母数はきわめて僅かであり、その多くは*Saccharomycopsis*属とみられる帽子状の子嚢胞子を2~3ケもつ菌糸状酵母であった。また無胞子酵母も取得できたが、平板上の形状や菌糸の糸状性、出芽細胞などから、菌糸状を

Table 1 Chemical Analysis of "Dagé", Product and Its Raw Material, Coconut Press Cake

Items	Raw material (%)	Dagé (%)
Water	13.4	77.4
Total sugar	35.2	11.6
Protein	19.3	4.6
Fat	7.8	1.0
Fiber	18.6	4.2
Ash	5.9	1.3

呈する *Candida* 属であった。すなわち「ダケ」に見られる酵母は糸状性の酵母のみで、典型的な *Saccharomyces* 属はみられなかった。おそらく「ダケ」の製法はすべて蠶棚で広く敷いたむしろの上に、薄く、蒸したキヤツサバ粕をひろげ、「ダケラギ」の粉末を撒布後、静置し、製麴と同じようにつくるから表面率が高く糸状性酵母の発育に適しているからであろう。

しかし、酵母数は少数であったから、種の同定はおこなわなかった。

糸状菌：製麴2日後のダケは糸状菌の菌糸により柔らかく成型されていた。この試料からのすべての分離株は、假根を着生せず柱軸が明瞭なことから、*Mucor* 目の中では *Rizopus* 属、*Absidia* 属および *Mortierella* 属ではなく、さらに胞子の長径はTable 2に記載したように、分離株全てが大型であり、*Rizomucor* とも相異した。以上のことから、分離株はすべて *Mucor* に属する糸状菌であった。

また供試した分離株は37℃に生育できず、図1のように中軸に小突起がないことから、*M. circinelloides* および *M. plumbeus* とも異なった。さらに胞子囊の大きさも50 μm以下と小さく、50~100 μmである *M. piriformis* と相異し、厚膜胞子を欠いているので *M. racemosus* にも該当しなかった。これら分離した *Mucor* 属の写真を示したが、之によれば胞子は明らかに楕円か円で

突起はなく、中軸も円形である。

したがってダケラギおよびダケ製品からの分離株全ては *M. hiemalis* と同定した。

試料はプレベス近郊の幾つかの農家レベル工場から収集したのであるが、これら工場の全分離株が、*M. hiemalis* であるのは、興味がある。しかも発酵種に使用するダケラギは市販ではなく、それぞれの農家の納屋の片隅に特別な部屋を設け製造していた。いわゆる固有の麴室でダ

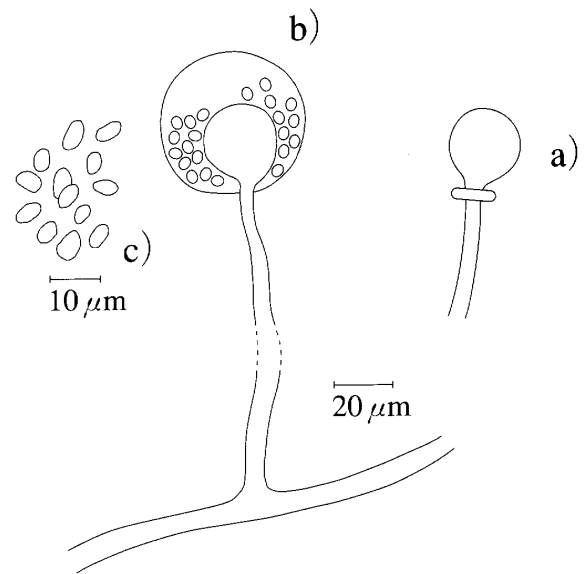
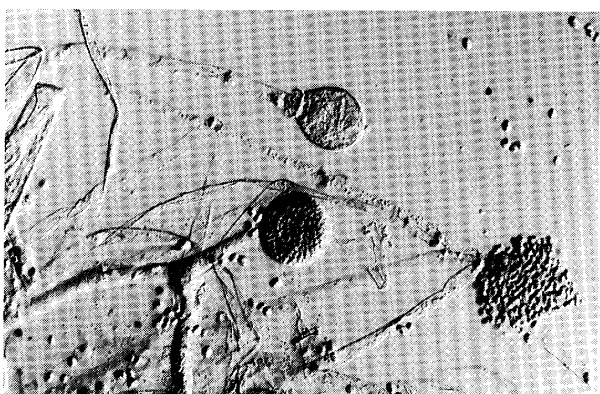
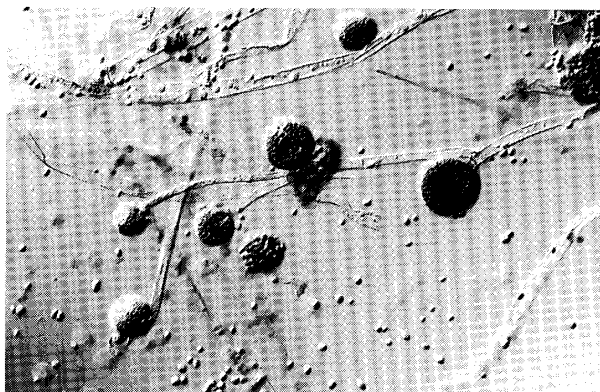


Fig 1. *Mucor hiemalis* isolated from Dage
a) Collumellae
b) Sporangia
c) Sporangiospores

Table 2 Columellae and Sporangiospores of *Mucor hiemalis* Isolated from “Dage”

Examined strains	Columellae (dia., μm)	Sporangiospores (length, μm)	Chlamydoconidia
AT-1	25-37.5	5-10 (-12.5)	-
AT-4	27.5-45	5-11	-
AT-7	30-40	5-10.5	±
BT-2	30-42.5	4.5-10	-
BT-6	25-48	5-11	-
BT-7	22.5-42.5	5-10	-



ケラギを生産し、ダケの製造に使っていた。よって各農家で特徴があり、相異が供試株の間で見られると期待していたが、全く同じ*Mucor hiemalis*であった。

過去によい製品が一つの農家で作られたとき、その製品を持ち帰って自家の種としてダケを製造し、今日にいたったから同一の株になったか、または、キヤッサバ搾粕と云う特殊な原料であるから、*Mucor hiemalis*がその環境によく適応して生育する種であるかは、今後の問題として残される。

ともかくテンベの製造を核としてインドネシアの多くの類似の発酵食品は*Rhizopus*属や*Neurospora*属の発酵によってつくられるが、同じ製法によってつくられるDagéは*Mucor*属のみで製造されるキヤッサバ粕の発酵食品であった。

*Bacillus*属および乳酸菌群について：SAONOおよびKOらの報告および成書によれば、「ダケ」の主要な微生物は*Bacillus subtilis* (natto) であり、

製造は粘質をもち——いわゆる「糸を引く」現象を呈すると言う。しかし前回の調査ではダケ製品は糸を引く現象はみられず、菌糸に包まれていて、主要微生物は糸状菌と考えられた。しかし、乳酸菌および*Bacillus*の生息もみられたから、試料より、細菌をGYP培地および同培地の白堊寒天を用いて分離すると同時に細菌数も計測した。

新鮮な「ダケ」製品には、*Bacillus*属も乳酸菌もともに $10^4 \sim 10^5$ cfu/1 g存在したが、糸状菌に比較して、きわめて少なく、主要菌にはなりにくい。

GYP白堊寒天から分離された生酸菌のコロニーは小さい丸型でよくCaCO₃を溶解していた。Table 3のように全株はともにグラム陽性でカタラーゼ陰性の、微好気性の4連球菌であった。つぎにこれら分離株から10株をえらび詳細に同定した。同定に供した株はホモ型発酵によりブドウ糖からDL乳酸を生成し、15℃から40℃によく生育するが、最適温度は32℃であった。生育PHは4.2から7.2であり、6.5が最適の結果を得た。また6%の食塩では、生育はや、遅くなるがよく増殖した。アラビノース、キシロース、グルコース、マルトースなどから乳酸を産生した。

これらの結果から、分離した乳酸菌は*Pediococcus pentosaceus*と同定された。*P. pentosaccus*はラギ、ルクパン、ブボドなどの餅麴こうじからつねに分離される主要な乳酸菌であり、他の植物などの食品にも生息する種である。また*P. pentosaccus*の生成酸は高くないが、ダケの僅かな酸味はこの乳酸菌だからであろう。

以上の結果から「ダケ」および「ダケラギ」の主要な微生物は*Mucor hiemalis*であり、SAONOらの報告の*Bacillus*はきわめて小数の細胞のみ得られたことから、主要な微生物ではないと考えられる。また乳酸菌は*P. pentosaccus*であった。

Table 3 Morphological and Physiological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from “Dagé”

Cells: Tetrads, pairs, Spherical,
 Gram stain (+), Catalase (-), Microaerophilic
 Homofermentative, Optical form DL,
 Temperature of growth: 10° (-), 15° (+), opt, 32° , 40° (+) and -6.5
 OptimumPH for growth: PH6.0-6.5
 Growth in 6.5% NaCl broth, 10% NaCl(-)
 Sugars fermented: arabinose, xylose, glucose and maltose
 All strains isolated from “Dagé” were identified as *Pediococcus pentosaceus*

要約

- 1) インドネシア固有のキヤッサバ粕を原料として作られる「ダケ」の主要関与微生物を、分離、同定後に確定した。
- 2) 主な微生物はSAONOらの報告した*Bacillus sp.*ではなく、糸状菌の*Mucor hiemalis*であった。
- 3) 1市、2村の農村から得た「ダケ」試料の主要な糸状菌は共通して*M. hiemalis*であった。
- 4) 全ての試料から得られた乳酸菌は*Pediococcus Pentosacens*に限られた。
- 5) 酵母も全て糸状菌酵母*Saccharomycopsis sp.*および*Candida sp.*であった。

このようにDagéは農家で、それぞれ作られていたが、微生物学的には、数種の微生物のみの関与で製造されていたことがわかった。

- 1) 小崎道雄, 飯野久和, KAPTI RAHAYU KUSWANTO: 昭和女子大学生生活機構研究科紀要 5, 63 (1996)
- 2) KO SWAN DJIEN: Fermented Foods (Academic Press), 24 (1982)
- 3) SUSONO SAONO, GANDJARL I., and KARSONO H. Annales Bogoriensis, 5, 187 (1974)
- 4) PITT, J. I., HOCKING, A. D.: Zygomycetes. in “Fungi and Food Spoilage” 143 (1985)

Academic Press.

- 5) SCHIPPER, M. A. A. Stud. mycol., Baarn, 17, 1 (1978) CBS Press.
- 6) KANDLER, O. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, 1209 (1986) The Williams & Wilkins Co.
- 7) 小崎道雄編: 乳酸菌実験マニュアル (1992) 朝倉書店